



## **TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CHINÁ**

### **INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL o TESIS**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

#### **LICENCIADO EN BIOLOGIA**

PRESENTA:

**PASCUAL BAEZA ALBERTO ABRAHAM**

ASESOR INTERNO:

**GUERRERO TURRIZA HECTOR OCTAVIO**

TÍTULO:

**“EVALUACION DE EXTRACTOS DE CITRUS SPP. Y ALOE VERA SP SOBRE  
EL CRECIMIENTO IN VITRO DE FUSARIUM SP”**

**MAYO/2026**



Calle 11 S/N entre 22 y 28, Chiná, Campeche, C.P. 24520.

Tel. 9818272052 y 9818272082 dir\_china@tecnm.mx [www.itchina.edu.mx](http://www.itchina.edu.mx)



**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS de *Citrus spp* y *Aloe vera sp* SOBRE EL  
CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Fusarium sp*.**

Este trabajo fue revisado y aprobado por este comité y presentado por el C. Alberto Abraham Pascual Baeza como requisito parcial para obtener el título DE LICENCIADO EN BIOLOGIA el día \_\_21\_\_ DE \_\_\_\_\_ MAYO \_\_\_\_ del AÑO 2026 en Chiná, Campeche.

## **AGRADECIMIENTOS.**

A Dios en primer lugar y a mis padres por toda su ayuda y apoyo incondicional al M.C. Héctor Guerrero por brindarme la confianza para realizar este proyecto y el apoyo en sus conocimientos por brindarme el apoyo necesario con sus conocimientos y su asesoría.

A los docentes del Instituto Tecnológico de Chiná por todos los conocimientos brindados durante mi formación

## **DEDICATORIAS.**

Dedico este trabajo a mis padres que estuvieron presentes en todo momento alentándome, a mis amigos que me acompañaron y con todos aquellos con los que conviví y pasé los mejores momentos durante todo este trayecto

A mis maestros que con sus conocimientos fueron guiándome hasta poder culminar esta hermosa carrera, con sus consejos en los momentos difíciles

A todas estas personas gracias

## RESUMEN.

Los hongos del género *Fusarium* son un problema en los cultivos agrícolas, estos pueden atacar a los cultivos en las diversas etapas de desarrollo desde la pregerminación hasta la postcosecha, situación que implica pérdidas económicas para los productores. La forma de control más común sobre *Fusarium* es mediante el uso de agroquímicos que muchas veces debido al mal manejo provocan la pérdida de controladores biológicos, ocasionando el incremento de plagas y enfermedades en el predio. Los extractos de origen vegetal son una alternativa a los plaguicidas de origen químico, para el control de plagas y enfermedades ya que no generan resistencia y son amigables con el medio ambiente. Los resultados de la investigación que se exponen en el presente documento se obtuvieron a partir del trabajo realizado en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Tecnológico de Chiná, Se evaluaron tres extractos etanólicos (sábila: cáscara y gel; toronja: cáscara; y naranja agria: cáscara) y cuatro extractos acuosos (Sábila: cáscara, Sábila: cáscara y gel, Naranja agria: cáscara y Toronja: cáscara) en concentraciones de 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, 1 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 50 mg/mL, 70 mg/mL, 100 mg/mL y agua purificada esterilizada como testigo en cada uno de los extractos, con la finalidad de determinar su capacidad de inhibición en el crecimiento *in vitro* de una cepa de *Fusarium sp.* midiendo el crecimiento radial partiendo del disco infectado hasta el borde del diámetro del micelio día a día durante siete días. Los extractos etanólicos de sábila (cáscara y gel con 100% y 65% de inhibición en concentraciones de 100 y 70 mg/mL) y naranja agría (63.6 % de inhibición en concentracion de 70 mg/mL); y acuosos de sábila (cáscara y gel en concentracion de 100 mg/mL con 47.5% de inhibicion) demostraron tener capacidad de afectar el crecimiento de *Fusarium*. De acuerdo con los resultados de este trabajo, y aunque se requiere profundizar en las investigaciones al respecto, los extractos etanólicos de sábila y naranja agría podrían representar una alternativa eficiente para el control de *Fusarium* en los cultivos.

Palabras clave: **tamizaje fitoquímico, metabolitos secundarios, fungicidas biológicos.**

## CONTENIDO.

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| AGRADECIMIENTOS.....                                                                                     | 1  |
| DEDICATORIAS.....                                                                                        | 2  |
| RESUMEN.....                                                                                             | 3  |
| ÍNDICE DE TABLAS.....                                                                                    | 6  |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                                                                                   | 7  |
| 1 INTRODUCCIÓN.....                                                                                      | 8  |
| 2 JUSTIFICACIÓN.....                                                                                     | 10 |
| 3 OBJETIVOS.....                                                                                         | 11 |
| 3.1 Objetivo general.....                                                                                | 11 |
| 3.2 Objetivos específicos.....                                                                           | 11 |
| 4 REVISIÓN LITERARIA.....                                                                                | 12 |
| 4.1 El género <i>Fusarium</i> .....                                                                      | 12 |
| 4.2 Extractos vegetales.....                                                                             | 15 |
| 4.2.1 Las plantas del género Citrus.....                                                                 | 16 |
| 4.2.2 Las plantas del género Aloe.....                                                                   | 16 |
| 4.2.3 Métodos de extracción.....                                                                         | 17 |
| 4.2.4 Metabolitos secundarios.....                                                                       | 18 |
| 4.2.5 Importancia de los metabolitos secundarios.....                                                    | 18 |
| 5 MATERIALES Y MÉTODOS.....                                                                              | 20 |
| 5.1 Preparación de los extractos.....                                                                    | 21 |
| 5.1.1 Extracción con etanol.....                                                                         | 21 |
| 5.2 Extracción por rotaevaporador.....                                                                   | 22 |
| 5.3 Análisis fitoquímicos de los extractos vegetales.....                                                | 24 |
| 5.4 Evaluación de la capacidad de inhibición de los extractos de etanol,<br>hexano y agua destilada..... | 25 |
| 6 RESULTADOS.....                                                                                        | 26 |
| 6.1 Análisis fitoquímico de los extractos vegetales.....                                                 | 26 |
| 6.2 Evaluación de la capacidad de inhibición de los extractos.....                                       | 28 |
| 6.2.1 Extractos con hexano.....                                                                          | 28 |

|       |                            |    |
|-------|----------------------------|----|
| 6.2.2 | Extractos etanólicos. .... | 28 |
| 6.2.3 | Extractos acuosos. ....    | 32 |
| 7     | DISCUSIÓN. ....            | 37 |
| 8     | CONCLUSIÓN. ....           | 40 |
| 9     | RECOMENDACIONES. ....      | 41 |
| 10    | BIBLIOGRAFÍA. ....         | 42 |
|       | ANEXOS. ....               | 48 |

## ÍNDICE DE TABLAS.

|                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Extractos vegetales de sábila, naranja y toronja) aplicando la proporción 1/3 (m/v) en los disolventes de etanol, hexano y agua. ....                 | 21 |
| <b>Tabla 2.</b> Métodos empleados y compuestos a determinar en el análisis químico cualitativo de los extractos etanólico, hexanico y acuoso (Valencia-Ortíz,1995)... | 24 |
| <b>Tabla 3.</b> Cálculo dilución extracto-agar PDA de los extractos de sábila, toronja y naranja para los ensayos etanólicos y acuosos.....                           | 25 |
| <b>Tabla 4.</b> Análisis químico cualitativo de los extractos vegetales de sábila, naranja y toronja. ....                                                            | 27 |

## ÍNDICE DE FIGURAS.

|                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.-</b> Estructuras típicas del género de <i>Fusarium</i> (Monzón & Rodríguez-Tudela, S/A).....                                                                      | 14 |
| <b>Figura 2.-</b> Esquema de actividades realizadas para la obtención de extractos y pruebas en cepas de <i>Fusarium</i> sp.....                                               | 20 |
| <b>Figura 3.-</b> Separación de solvente-extracto vegetal.....                                                                                                                 | 23 |
| <b>Figura 4.-</b> Dispositivos utilizados en el filtrado de los extractos: jeringa de plástico de 10 mL de capacidad y acrodisco MILLEX GV de 0.22 µm de diámetro de poro..... | 24 |
| <b>Figura 5.-</b> Actividad antifúngica del extracto de sábila sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                              | 29 |
| <b>Figura 6.-</b> Actividad antifúngica del extracto de naranja sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                             | 30 |
| <b>Figura 7.-</b> Actividad antifúngica del extracto de toronja sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                             | 31 |
| <b>Figura 8.-</b> Actividad antifúngica del extracto de sábila; cáscara sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                     | 33 |
| <b>Figura 9.-</b> Actividad antifúngica del extracto de sábila; cáscara y gel sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                               | 34 |
| <b>Figura 10.-</b> Actividad antifúngica del extracto de naranja sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                            | 35 |
| <b>Figura 11.-</b> Actividad antifúngica del extracto de toronja sobre el crecimiento radial del micelio de <i>Fusarium</i> sp.....                                            | 36 |

## 1 INTRODUCCIÓN.

En la agricultura mundial, los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y postcosecha en los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, siendo estos responsables de pérdidas económicas cuantiosas; también son responsables de las pérdidas de diversidad biológica, es decir, a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes de controladores biológicos alrededor de los cultivos. (Agrios, 2005).

Particularmente, los hongos del género *Fusarium* son un problema agrícola importante debido a que reducen la calidad y el rendimiento de los cultivos; y además otro daño importante es el ocasionado por las micotoxinas, que son responsables de enfermedades graves tanto en los seres humanos como en los animales (Nicolaisen *et al.*, 2009). Los hongos del género *Fusarium* ocasionan enfermedades en las plantas cuyos síntomas consisten en marchitamientos vasculares, necrosis, pudrición de raíces, pudrición de tallos, pudrición de frutos, granos y semillas (Nelson, 1990).

En la agricultura convencional el control más común del género *Fusarium* es mediante el uso de agroquímicos; el mal manejo provoca resistencia en las plagas, enfermedades y pérdida de controladores biológicos. Una alternativa para controlar estos problemas en los cultivos son los extractos de origen vegetal, ya que no generan resistencia y no alteran la biodiversidad de los controladores biológicos en los predios (Altieri y Nicholls, 2000).

El efecto de los extractos vegetales sobre los patógenos se debe a los metabolitos secundarios presentes en ellos (Marcano y Hasegawa, 2002). Algunos de los metabolitos incluyen fenoles, y en algunos casos los alcaloides, que juegan un papel importante en la defensa de las plantas contra patógenos, insectos y herbívoros (Swain, 1997).

Al respecto se sabe que las especies del género *Citrus* (incluyendo naranjas y toronjas) tienen gran valor comercial, ya que se ha comprobado la presencia de varios metabolitos secundarios como polifenoles y aceites aromáticos esteroideos (Murphy, 1999). Otra especie que se conoce como productora de metabolitos secundarios es el *Aloe vera* que se caracteriza por ser portadora de un amplio espectro de actividades biológica entre está la antifúngica y antimicrobiana debido a la presencia de constituyentes fenólicos (Okamura *et al.* 1996), el gel está constituido principalmente de agua, mucílagos, carbohidratos, ácidos y sales orgánicas, enzimas, saponinas, taninos, aminoácidos, trazas de alcaloides, vitaminas y diversos minerales (Reynolds, 2004)..

El objetivo del presente trabajo es conocer el potencial inhibitorio de extractos obtenidos a base de cascara de naranja agria, cascara de toronja y pencas de sábila y caracterizar los metabolitos secundarios presentes en dichos extractos.

## 2 JUSTIFICACIÓN.

El uso de productos químicos inorgánicos afecta el suelo, subsuelo, y la fauna, provocando la pérdida de controladores biológicos, lo que promueve un incremento de plagas y enfermedades en los cultivos involucrando una mayor cantidad de plaguicidas para el control de los problemas y enfermedades que se estén presentando.

El problema de hongos fitopatógenos es grave, este se debe a su presencia desde la pregerminación provocando necrosis en raíz y tallo, en cosecha y postcosecha mermando la calidad y cantidad del producto debido a que los hongos producen necrosis en los frutos.

Uno de los principales problemas generado por hongos en cultivos de interés agrícolas, es el *Damping off*, pudrición del tallo en las plantas. El exceso de humedad genera condiciones para que hongos pertenecientes a los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*. y *Verticillium* puedan proliferar y atacar a la planta provocando la sintomatología mencionada. El control más común a dicho padecimiento es a través del uso de agroquímicos.

Como alternativa al uso de agroquímicos para el control de *Damping off* se puede recurrir al uso de productos orgánicos que pueden ser obtenidos de plantas que presenten resistencia a los hongos causantes de dicha enfermedad, a través de la producción de metabolitos que inhiben el crecimiento de los hongos. Algunas de las ventajas de los productos de origen vegetal sobre los agroquímicos convencionales es su menor impacto sobre los factores bióticos y abióticos, afectando menos a los controladores naturales en el medio y por lo tanto se logra una reducción de la presencia de plagas en los cultivos.

### 3 OBJETIVOS.

#### 3.1 Objetivo general.

- Evaluar *in vitro* el efecto de extractos orgánicos y acuoso obtenidos de toronja (*Citrus paradisi*), naranja agria (*Citrus aurantium*) y sábila (*Aloe vera*) sobre el crecimiento de *Fusarium sp.*

#### 3.2 Objetivos específicos.

- Obtener extractos orgánicos y acuosos de cascara de toronja (*Citrus paradisi*) y naranja agria (*Citrus aurantium*) pulpa y epidermis, de pencas de sábila (*Aloe vera*).
- Determinar las características fitoquímicas cualitativas de los extractos.
- Evaluar el potencial inhibitorio de los extractos vegetales *in vitro* en cepas de *Fusarium sp.*

## 4 REVISIÓN LITERARIA.

El efecto de los extractos de las plantas sobre algunos patógenos, ya sean de interés médico o agrícola, se debe a que contienen metabolitos secundarios con efecto fungicida y/o bactericida, destacan los compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos, quinonas, entre otros. Existen trabajos donde también se han evaluado Aceites Esenciales (AE) para el manejo de *F. oxysporum*; en ese sentido está el trabajo de AE de *R. officinalis*, en una concentración de 20 µg mL<sup>-1</sup> se inhibe el 93 % del crecimiento de *F. oxysporum*; mientras que con 10 µg mL<sup>-1</sup> de los AE de *P. anisum* y *S. hortensis* se inhibe totalmente el crecimiento de *F. oxysporum*. , concluyeron que los AE de *Chenopodium ambrosioides* al 2% y *Chenopodium album* al 0.03 %, inhiben por completo el crecimiento de *F. oxysporum*, *F. Lycopersici*, hasta por 11 días. (Barrier, 2017) Los extractos se pueden obtener a través de diferentes métodos: destilación con vapor-extracción con solvente, extracción con fluido supercrítico (Stashenko et al., 2003); soxhlet y lixiviación o percolación en frío. Existen trabajos de investigación donde se emplean extractos de plantas para el manejo de agentes fitopatógenos, en ese sentido están los que se han hecho para inhibición de *Phytophthora infestans* 1042 control de *Pythium* (Lira-Saldívar et al., 2003; Osorio et al., 2010), control de *Verticillium dahliae* (López-Benítez et al., 2005), *Sclerotinia sclerotiorum* (Al-Reza et al., 2010), *Fusarium oxysporum* (López-Benítez et al., 2005; Jasso de Rodríguez et al., 2007; Zamora Natera et al., 2008; Dania et al., 2014)

### 4.1 El género *Fusarium*

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes (Agrios, 1998). Los hongos patógenos son organismos que provocan

enfermedades a su hospedero, que puede ser animal o vegetal, y pueden ocasionarle una muerte prematura (Sánchez *et al.* 2005). En agricultura, estos organismos causan el deterioro patológico de frutas, hojas, tallos y productos subterráneos (raíces; tubérculos) ocasionando podredumbre o necrosis (Juárez *et al.* 2010).

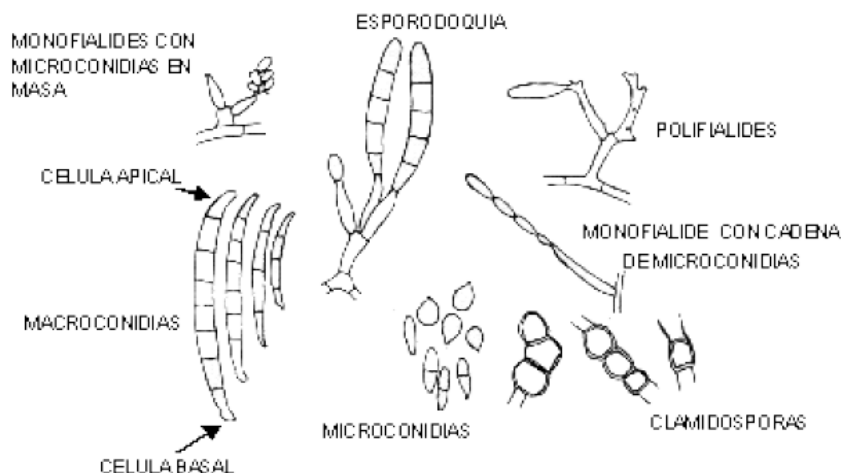
#### **4.1.1 Ciclo y condiciones de crecimiento del género *Fusarium*.**

Acuña y Araya (2017) mencionan que algunos hongos del género *Fusarium* pueden sobrevivir varios años en el suelo, infectando a las plantas en desarrollo, las principales fuentes de inóculo son el suelo, tubérculos de semilla infectada, sacos y equipamientos e infraestructura con manejos sanitarios deficientes. El hongo infecta a la planta principalmente por heridas ocasionadas durante el periodo de cosecha, haciéndose evidente el daño al mes siguiente del almacenaje, pero desde el momento de la infección se pueden producir síntomas de enfermedad, como pudrición y esporulación, que pueden propagar el daño a otras plantas.

#### **4.1.2 Características del género *Fusarium*.**

Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macro conidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados. Para su correcta clasificación es importante observar el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie). Los microconidios, ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovales, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas “falsas cabezas”), en cadenas largas o cortas; todas observables a la lupa (40x). Otro tipo de conidios son los mesoconidios, de menor tamaño que los macroconidios y nunca forman estructuras mucoides. Por último, pueden observarse las clamidosporas

características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo. (Tapia y Amaro 2014). (Fig. 1)



**Figura 1.-** Estructuras típicas del género de *Fusarium* (Monzón & Rodríguez-Tudela, S/A).

#### 4.1.3 Taxonomía del género *Fusarium*.

Los hongos del género *Fusarium*, pertenece al reino *Fungi*, según Maharachchikumbura *et al.* (2016) se agrupan dentro de la división *Ascomycota*, en la clase *Sordariomycetes* del orden *Hypocreales* en la familia *Nectriaceae*.

Kuhar (2013) menciona que la cantidad de formas, colores y tamaños que tienen los hongos pertenecientes a este género es inmensa.

Ávalos *et al.* (2018) indica que su distribución es cosmopolita y se han encontrado colonizando tanto hábitats continentales como marinos, ya sea como saprobios, parásitos o simbiote. Por otro lado, Maharachchikumbura *et al.* (2016) menciona que es una de las clases más grandes de los *Ascomycotas* que comprende una gama muy diversa de hongos caracterizados principalmente por los peritecios típica de los ascomata. Raymundo (2017) menciona que se caracteriza por presentar peritecios solitarios, o estos crecen sobre, o inmersos, en estromas de colores brillantes, blancos, amarillos, anaranjados, rojos, a veces verdosos, rara vez negruzcos y las ascosporas son hialinas amarillentas o verdes. Cepero *et al.* (2012)

menciona los géneros de esta familia presentan peritecios tipo *Nectria* y producen gran cantidad de metabolitos tóxicos. Villa *et al.* (2015) menciona que los hongos del género *Fusarium* son filamentosos, cosmopolitas, tienen un micelio bien desarrollado, septado y conidióforos de forma muy característica, aunque algunas especies tienen un talo unicelular, son considerados principalmente como hongos de campo, los hongos de este género más comunes son *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. verticilloides*, *F. dimerum* y *F. chlamydosporum*.

#### **4.1.4 Importancia económica del género *Fusarium*.**

Las especies del género *Fusarium* son los agentes causales de gran cantidad de enfermedades en cultivos agrícolas de todo el mundo y generan importantes pérdidas económicas debido al daño que provocan en las cosechas y en el periodo de almacenaje (Senasica 2012).

Rivera (2009) menciona que una subespecie de *F. oxysporum* es la causa de las pérdidas de entre 10% y 53% del cultivo de papa en el mundo, y la literatura especializada no refiere condiciones ambientales particulares que limiten el desarrollo de este hongo patógeno en las zonas productoras de papa en México, por lo que es considerado un fitopatógeno de alto riesgo.

A otras especies del género *Fusarium* como son *F. oxysporum* y *F. solani* junto a géneros como *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Phytium spp.* se les conoce como los agentes causales de marchitez en los países de Chile y México desde 1967 (Rivera 2009).

#### **4.2 Extractos vegetales.**

Santamaría *et al.* (2015) define a los extractos vegetales como compuestos que contienen sustancias biológicamente activas que se encuentran presentes en los tejidos de plantas, y son obtenidos a través del uso de un disolvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otros solventes selectivos) siguiendo un procedimiento de

extracción adecuado, ajustándolo de acuerdo con el tipo de planta, la parte utilizada, el solvente y de la técnica de extracción, en función de dichas características se podrá obtener una diferente gama de sustancias.

Viuda *et al.* (2008) menciona dentro de los extractos vegetales más utilizados en la agricultura se encuentran aquellos preparados con base en material vegetal proveniente de genero *Citrus* y genero *Aloe*.

#### **4.2.1 Las plantas del género *Citrus*.**

Las plantas del género *Citrus* han sido muy estudiadas para el control de microorganismos, y se informa que pueden inhibir el crecimiento de varias especies de hongos, esto se debe a que producen diferentes tipos de metabolitos secundarios tanto en los frutos como en las hojas, los metabolitos encontrados incluyen alcaloides, terpenos, fenoles, flavonoides, taninos y saponinas (Aristizábal, 2011).

#### **4.2.2 Las plantas del género *Aloe*.**

Las plantas del género *Aloe* son una amplia fuente de micronutrientes esenciales (Na, Ca, Mg, K entre otros), en fitoquímicos activos están (ácido ascórbico, tocoferoles o vitamina E y en compuestos fenólicos totales como el ácido gálico) que son capaces de reducir los radicales libres que causan las reacciones de oxidación (Loots *et al.* 2007, McInerney *et al.* 2007, Miranda *et al.* 2009, Domínguez *et al.* 2012), que incluso la cantidad de micronutrientes y fitoquímicos activos algunas veces llega a ser superior en los contenidos encontrados en otras fuentes conocidas por ser ricas en estos compuestos; por ejemplo, el género *Citrus* (De Chávez *et al.* 1992; Ojeda 2007, Domínguez *et al.* 2012).

### **4.3 Métodos de extracción.**

La extracción de compuestos biológicamente activos se puede realizar por métodos convencionales como la destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, hidrodestilación asistida por radiación de microondas, otros procedimientos utilizados comúnmente son: por maceración, por lixiviación y por Soxhlet (León, 2015).

#### **4.3.1 Extracción por Maceración.**

Este es un método de extracción sólido-líquido donde el material vegetal que se desea extraer contiene compuestos solubles en el líquido de extracción, para realizar este proceso el material vegetal se corta en trozos pequeños o se muele/masera, fresco o seco se coloca en recipientes adecuados, añadiendo el solvente seleccionado de acuerdo con la polaridad deseada (hexano o éter de petróleo, cloroformo, metanol, etanol) en reposo o en un equipo con agitación continua, a temperatura ambiente durante cinco días cada extracción (Bonatti, 1991).

#### **4.3.2. Extracción por Lixiviación.**

En este método de extracción se produce el desplazamiento de sustancias solubles por medio de un disolvente líquido, se utiliza industrialmente para preparar elixires; el material vegetal fresco se coloca en un recipiente a temperatura ambiente, durante 3 días, con acetona o algún otro solvente o mezcla de solventes, sin ser necesario cortar en trozos dicho material, después de este tiempo se decanta y se evapora la acetona en un rotaevaporador (Walton y Brown, 1999).

#### **4.3.3. Extracción por Soxhlet.**

La extracción por el método de Soxhlet según Verde *et al.* (2016) es un proceso de extracción continua en el que el material sólido que contiene los compuestos deseados, se coloca dentro de un dedal de papel filtro grueso, que se carga en la cámara principal del extractor Soxhlet, donde se hace pasar el solvente, repitiendo el ciclo hasta que sea necesario, puede ser durante horas o días.

#### **4.4. Metabolitos secundarios.**

Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios o productos naturales, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes, colorantes, entre otros (García y Carril, 2009).

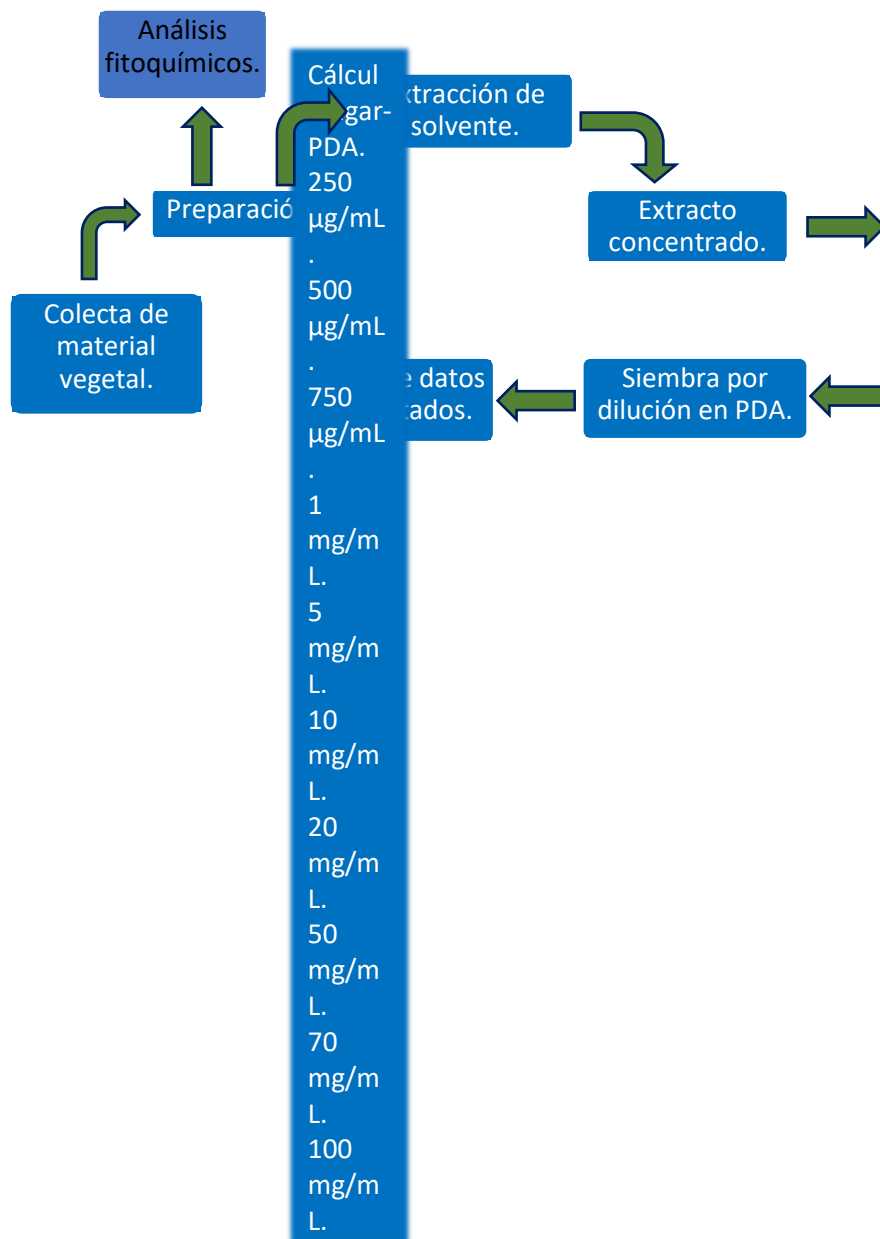
##### **4.4.1. Importancia de los metabolitos secundarios.**

Existe un extenso repertorio de metabolitos secundarios presentes en concentraciones variables, en todos los tejidos vegetales cuya función primordial parece ser la defensa contra invasiones microbianas. Estos compuestos se caracterizan por su estado permanente (Vivanco, *et al.* 2005). Según Hernández *et al.* (2007) dentro de los principales productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Independientemente de su estructura química su función según (Vivanco, *et al.* 2005) sirven de barrera inicial a la propagación de bacterias u hongos dentro de los tejidos de la planta. Pueden, ejercer una presión

selectiva sobre los patógenos potenciales; que, con el tiempo podría desarrollar, por mutación, mecanismos de resistencia, y perpetuar así el ciclo de cambio en patógeno y hospedador.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS.

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto Tecnológico de China, en el periodo de agosto del 2018 a junio de 2019, se realizaron diversas actividades: colecta, preparación de extracto, extracción, etc. (Fig. 2).



**Figura 2.-** Esquema de actividades realizadas para la obtención de extractos y pruebas en cepas de *Fusarium sp.*

Para poder realizar los extractos vegetales se optó por utilizar el etanol al 100% como disolvente debido a que este reactivo es soluble en agua y puede interactuar con el material que se usaría en fresco. Se decidió utilizar material vegetal fresco debido a que la hoja de sábila tiene un alto contenido de agua y al secarlas se

obtiene poco material, y en la preparación de los extractos se requiere una gran cantidad.

## 5.1. Preparación de los extractos.

Las hojas de sábila fueron colectadas de predios ubicados en el ejido de Chiná, y el fruto de la naranja agria y de la toronja se recolectaron en el Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche. Para preparar extractos con hexano, etanol y agua destilada esterilizada, se mantuvo una proporción de 1/3 (m/v).

### 5.1.1. Extracción con etanol.

Extracto de Sábila: Cáscara y gel.

Las hojas de sábila se lavaron con agua destilada esterilizada, se cortaron trozos de aproximadamente 3.0 cm<sup>3</sup> y se pesaron 149.50 g, se colocaron en un frasco de vidrio transparente de 1000 mL de capacidad al cual se le añadieron 449 mL de etanol e inmediatamente se selló el frasco con papel film (Tabla 1).

**Tabla 1.** Extractos vegetales de sábila, naranja y toronja) aplicando la proporción 1/3 (m/v) en los disolventes de etanol, hexano y agua.

| Extracto.               | Peso de vegetal. (g) | Volumen de disolvente. (mL) | Disolvente. |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------|-------------|
| Sábila: cáscara y gel.  | 149.50               | 449                         | Etanol      |
| Naranja agria: cáscara  | 156.97               | 471                         | Etanol      |
| Toronja: cáscara.       | 180.50               | 542                         | Etanol      |
| Sábila: cáscara y gel.  | 159                  | 477                         | Hexano      |
| Naranja agria: cáscara. | 203                  | 609                         | Hexano      |
| Toronja: cáscara.       | 200                  | 600                         | Hexano      |
| Sábila: cáscara.        | 129.90               | 377.70                      | Agua        |
| Sábila: cáscara y gel.  | 213                  | 639                         | Agua        |
| Naranja agria: cáscara. | 201                  | 603                         | Agua        |
| Toronja: cáscara.       | 75                   | 225                         | Agua        |

Este procedimiento se realizó en la preparación de todos los extractos de etanol, hexano y acuosos, todo el material vegetal que se utilizó fue lavado con agua destilada.

El contacto del material macerado tanto en etanol como en hexano estuvo con el disolvente por 72 h en agitación constante, después de ese tiempo y con la finalidad de eliminar el material vegetal que se contenga se realizó un filtrado utilizando un embudo, gazas y algodón, los extractos se colectaron en frascos de vidrio, sellándolos y resguardándolos en un lugar alejados de la luz directa y a temperatura ambiente, hasta el momento de su uso.

La mezcla de material vegetal macerado estuvo en contacto con agua destilada esterilizada por 24 h en agitación constante, después se filtró utilizando un embudo, gazas y algodón para eliminar materia vegetal, se taparon los extractos realizándoles agujeros en la tapa para evitar la fermentación y se resguardo a 5°C para utilizarse posteriormente en los ensayos para el control de *Fusarium*.

#### **5.1.2. Extracción por rotaevaporador.**

Extracción de los metabolitos de los extractos vegetales.

Esta etapa se llevó a cabo a través del uso de un rotaevaporador (Caframo vv 2000) (Fi. 3), ubicado en el Laboratorio de Agua-Suelo-Planta del Instituto Tecnológico de Chiná.



**Figura 3.-** Separación de solvente-extracto vegetal.

Las condiciones experimentales del rotaevaporador para la extracción de metabolitos secundarios fueron: temperatura de condensación de 4°C, temperatura de evaporación de 80°C y rotación de 120 rpm, posteriormente se redujo a 80 rpm, este procedimiento se realizó para los tres extractos disueltos en etanol (Cáscara de Naranja, Cáscara de Toronja y Sábila: cáscara y gel). En el caso de los extractos vegetales utilizando hexano, los metabolitos se extrajeron con las siguientes condiciones experimentales: temperatura de condensación de 4°C, temperatura de evaporación de 70°C y rotación de 40 rpm; igualmente, este procedimiento se realizó para los tres extractos (Cáscara de Naranja, Cáscara de Toronja y Sábila: cáscara y gel).

Para los extractos acuosos las condiciones de purificación se dieron empleando una jeringa de 10 mL y una membrana MILLEX GV de 0.22  $\mu\text{m}$ , se utilizaron 10 ml de cada uno de los cuatro extractos (Sábila: cascara, Sábila: cascara y gel, Naranja agria: cáscara y Toronja: cáscara). a través de una jeringa haciéndolo pasar por una membrana MILLEX GV de 0.22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poros (Fig. 4) el

contenido se recolectó en un tubo de ensayo de 50 mL y se almacenó en refrigeración a 5°C.



**Figura 4.-** Dispositivos utilizados en el filtrado de los extractos: jeringa de plástico de 10 mL de capacidad y acrodisco MILLEX GV de 0.22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.

## 5.2. Análisis fitoquímicos de los extractos vegetales.

Para los análisis fitoquímicos se emplearon las técnicas mencionadas por Valencia-Ortíz. (1995) en el que se explican los paso a seguir para identificar las familias de los compuestos químicos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Métodos empleados y compuestos a determinar en el análisis químico cualitativo de los extractos etanólico, hexánico y acuoso (Valencia-Ortíz,1995).

| <b>Método.</b>      | <b>Compuesto.</b> |
|---------------------|-------------------|
| Shinoda.            | Flavonoides       |
| Cloruro Férrico.    | Fenoles.          |
| Gelatina.           | Taninos           |
| Nihidrina.          | Grupo amino.      |
| Lieberman-Burchard. | Triterpenos.      |

|             |                      |
|-------------|----------------------|
| Börntrager. | Quinonas.            |
| Baljet      | Lactonas.            |
| Dragendorff | Alcaloide.           |
| Espuma.     | Saponina             |
| Rosemheim.  | Leucoantocianidinas. |

### 5.3. Evaluación de la capacidad de inhibición de los extractos de etanol, hexano y agua destilada.

En un tubo Eppendorf se colocó 1.0 µl de agua destilada y esterilizada, posteriormente con el aza de siembra se tomó una muestra de *Fusarium sp.*, se introdujo en un tubo Eppendorf, se agitó vigorosamente para que las esporas se esparcieran homogéneamente, y se introdujeron discos de papel filtro de 6.0 mm de diámetro previamente esterilizados.

Se prepararon 250 mL del medio de cultivo para cada uno de los ensayos (etanol, hexano y agua destilada) en una proporción 1/25 (m/v) que se esterilizo en autoclave a 116°C durante 30 min.

Los medios de cultivo con los extractos se prepararon en campana de flujo laminar (Lumina L-120), se procedió a agregar la cantidad del extracto requerido en la caja Petri (Tabla 3), y posteriormente se agregó la cantidad de medio de cultivo para las concentraciones de 250 µg/µL, 500 µg/µL, 750 µg/µL, 1 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 50 mg/mL, 70 mg/mL y 100 mg/mL), se agito hasta obtener una mezcla homogénea y se dejó solidificar. Sobre la mezcla sólida de PDA con los extractos se colocaron los discos de papel filtro que contenían las cepas de *Fusarium sp.*, se agregó un testigo por cada ensayo (etanol, hexano y agua) el cual constaba de agregar 1.0 µL de medio de cultivo PDA en una caja Petri y posteriormente se colocaba el disco infectado de *Fusarium sp.*

**Tabla 3.** Cálculo dilución extracto-agar PDA de los extractos de sábila, toronja y naranja para los ensayos etanólicos y acuosos.

| # Anexo. | Titulo.                                                                                    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Anexo 1  | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanólico de sábila: cáscara y gel. |

|         |                                                                                             |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Anexo 2 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanólico de toronja: cáscara.       |
| Anexo 3 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanólico de naranja agria: cáscara. |
| Anexo 4 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de sábila: cáscara.           |
| Anexo 5 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de sábila: cáscara y gel.     |
| Anexo 6 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de naranja agria: cáscara.    |
| Anexo 7 | Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de toronja: cáscara.          |

---

## 6. RESULTADOS.

Se realizaron análisis fitoquímicos para identificar los compuestos químicos presentes en el material vegetal utilizado, se probaron los extractos vegetales con etanol, hexano y agua destilada y esterilizada para conocer su potencial inhibitorio en las diversas concentraciones aplicadas en cepas de *Fusarium sp.*

### 6.1. Análisis fitoquímico de los extractos vegetales.

De acuerdo con el análisis químico cualitativo que se realizaron en los extractos vegetales de sábila, naranja y toronja la presencia de metabolitos secundarios que se determinaron se indica en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Análisis químico cualitativo de los extractos vegetales de sábila, naranja y toronja.

| METABOLITOS<br>IDENTIFICADOS | EXTRACTANTE                           |     |      |        |     |     |      |      |      |     |     |
|------------------------------|---------------------------------------|-----|------|--------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|
|                              | ETANOL                                |     |      | HEXANO |     |     |      |      | AGUA |     |     |
|                              | TIPO DE MATERIAL VEGETAL <sup>§</sup> |     |      |        |     |     |      |      |      |     |     |
|                              | T:C                                   | N:C | S:CG | S:C    | N:C | T:C | S:CG | S:C. | S:CG | N:C | T:C |
| Saponinas                    | -                                     |     | -    | -      | -   | -   | -    | -    | +    | -   | -   |
| Saponina esteroide           | -                                     |     | -    | -      | -   | -   | -    | +    | -    | +   | +   |
| Lactona                      | +++                                   | +++ | ++   | +++    | +++ | +++ | +++  | ++   | ++   | +++ | +++ |
| Taninos                      | +                                     | ++  | -    | -      | +   | +   | -    | -    | -    | -   | -   |
| Leucoantocianidinas          | -                                     |     | -    | -      | -   | -   | -    | -    | -    | +   | +   |
| Xantonas y Flavonas          | +++                                   | +++ | -    | -      | -   | -   | -    | +    | -    | -   | -   |
| Flavonoles                   | -                                     | -   | -    | -      | -   | -   | -    | -    | -    | ++  | ++  |
| Triterpenos esteroide        | -                                     | -   | -    | -      | -   | -   | -    | -    | -    | +   | +   |
| Grupo amino                  | +++                                   | -   | +    | -      | -   | -   | -    | -    | -    | +++ | +++ |

Presencia del metabolito: +++ Muy alta, ++ Alta, + Positivo, – Negativo. <sup>§</sup>Toronja: cáscara (T:C.), Naranja agria: cáscara (N:C.), Sábila: cáscara (S:C.), Sábila: cáscara y gel (S:C y G.).

Como se puede observar, el género *Citrus* y *Aloe vera* contienen diversos compuestos químicos. Se identificaron presencia muy alta de lactona en casi todos los extractos salvo los extractos acuosos de sábila: cáscara y sábila: cáscara y gel que obtuvo una presencia alta y de la misma manera se observó en el extracto etanólico de sábila: cáscara y gel. Para el grupo amino se obtuvo presencia muy alta en el extracto etanólico de toronja y en los extractos acuosos de naranja agria y toronja, y positivo en el extracto etanólico sábila: cáscara y gel. En los extractos etanólicos de toronja y naranja se obtuvo presencia muy alta de Xantonas/Flavonas y en el extracto hexánico solo se observó en positivo. Para los extractos acuosos de naranja agria y toronja se obtuvo una presencia alta de flavonoles. El metabolito secundario tanino se idéntico en presencia alta en el extracto etanólico de naranja y positivo en el extracto etanólico de toronja, esta misma presencia se obtuvo en los extractos hexánicos de naranja y toronja. Los compuestos que tuvieron una menor presencia son saponinas, saponina esteroide, leucoantocianidinas y triterpenos esteroide.

## **6.2. Evaluación de la capacidad de inhibición de los extractos.**

### **6.2.1. Extractos con hexano.**

Al eliminar el disolvente del macerado de (sábila, naranja y toronja) por medio de arrastre de vapor, se pudo observar que el volumen de extracto obtenido era mínimo (2 mL), al realizar el ensayo de inhibición de crecimiento de *Fusarium* se observó que el extracto aun contenía residuos de hexano, que se percibía porque al contacto con el PDA, aún caliente, se detectó el olor característico de este solvente, lo que impedía la mezcla entre el medio de cultivo (PDA) y el extracto.

Al incrementar la cantidad de extracto sobre PDA se observó que no existía una mezcla homogénea causando que el medio de cultivo se alojara únicamente en los bordes de la caja Petri. Por esta razón se decidió eliminar el ensayo de inhibición usando extractos obtenidos en que se utilizó hexano como disolvente.

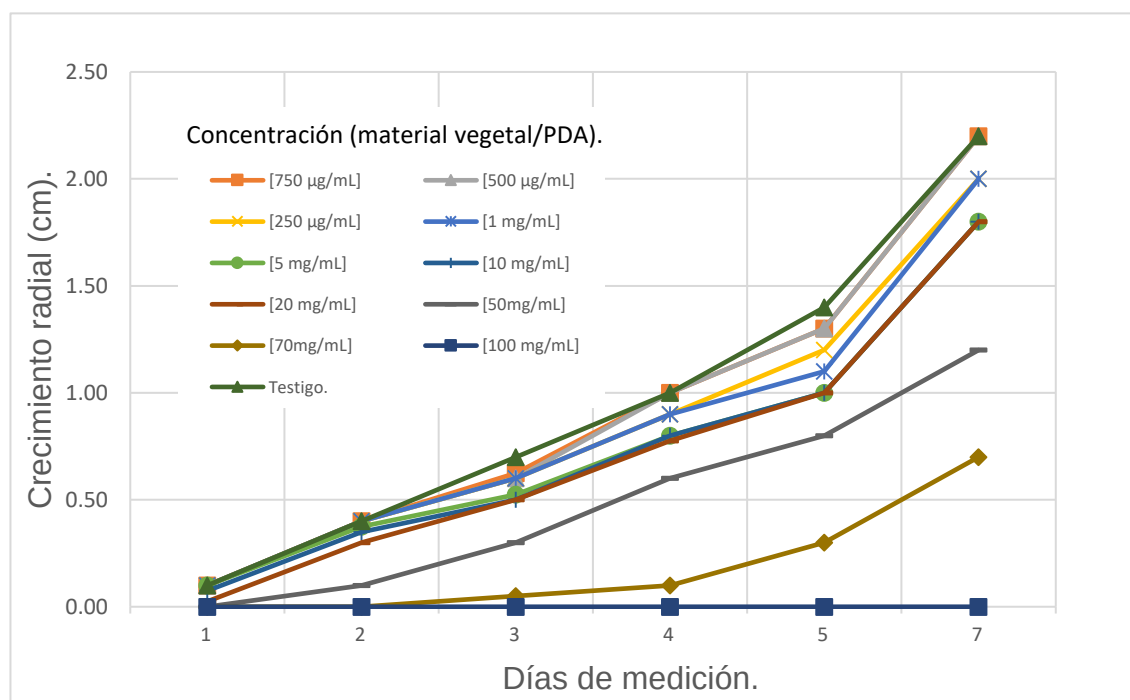
### **6.2.2. Extractos etanólicos.**

A diferencia de lo sucedido con los extractos obtenidos utilizando hexano, los extractos en el que se utilizó etanol como disolvente no tuvieron ningún problema al mezclarse con el PDA por lo que fue posible realizar las pruebas de inhibición sobre *Fusarium*.

#### **6.2.2.1. Sábila: cáscara y gel.**

Después de un periodo de evaluación de siete días sobre el efecto de los extractos de sábila se observó que el crecimiento de *Fusarium* se inhibió en tres concentraciones (100, 70 y 50 mg de sábila en 1.0 mL de agar), en la concentración de 100 mg de sábila en 1.0 mL de agar se obtuvo el mejor resultado, en dicho tratamiento no se observó crecimiento de micelio. En la concentración 70 mg/mL se

observó el segundo mejor resultado obteniendo un crecimiento radial del micelio de 0.70 cm en promedio. El tercer mejor resultado se obtuvo con la concentración de 50 mg/mL obteniendo un crecimiento radial de 1.20 cm de diámetro (Fig. 5).



**Figura 5.-** Actividad antifúngica del extracto de sábila sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

A diferencia de las concentraciones de 100, 70 y 50 mg/mL, para las concentraciones de 20, 10, 5, 1 mg/mL y 700, 500 y 250 µg/mL se dieron crecimientos variados muy cercanos al obtenido por el Testigo (PDA sin extracto vegetal). En las concentraciones de 20, 10 y 5 mg/mL se observó un crecimiento radial de 1.80 cm a los 7 días después de la siembra para los tres tiramientos mencionados. El crecimiento del micelio para las concentraciones de 1 mg/mL y 250 µg/mL fue de 2.0 cm y en las concentraciones de 500 y 700 µg/mL se obtuvo un desarrollo de micelio idéntico al del Testigo de 2.2 cm de diámetro el séptimo día de observación.

En todos los tratamientos la inhibición del desarrollo del micelio fue siguiendo la misma tendencia; esto es, en los tres tratamientos de mayor concentración (100,

70, 50 mg/mL) del extracto se produjo un menor crecimiento radial del hongo muy evidente a partir del tercer día de observación.

#### 6.2.2.2. Naranja: cáscara.

Después del periodo de evaluación del crecimiento de *Fusarium* en PDA con los extractos de naranja usando etanol como disolvente, se observó que el crecimiento de *Fusarium* fue variado y la mayor inhibición fue en los medios de cultivo en que se adicionaron concentraciones de 70, 100 y 50 mg de naranja por cada mililitro de agar (Fig. 6).

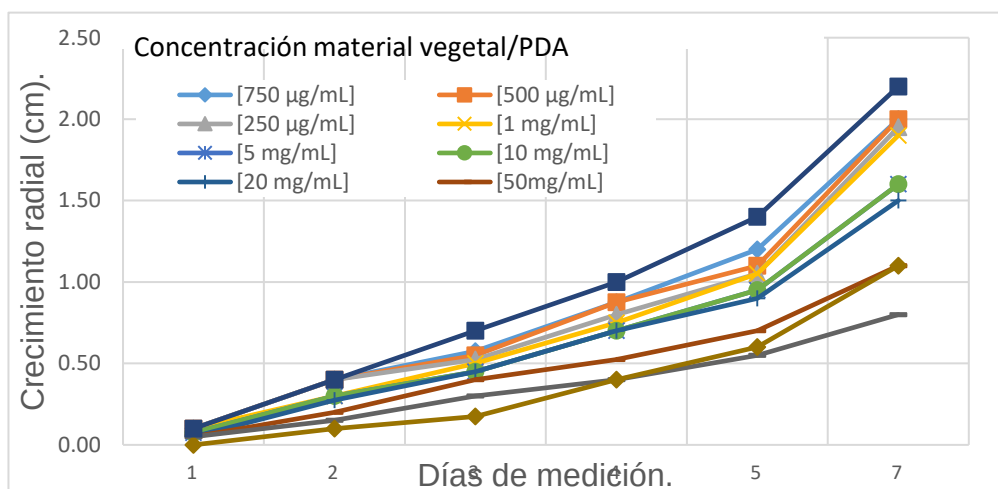


Figura 6.- Actividad antifúngica del extracto de naranja sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium* sp.

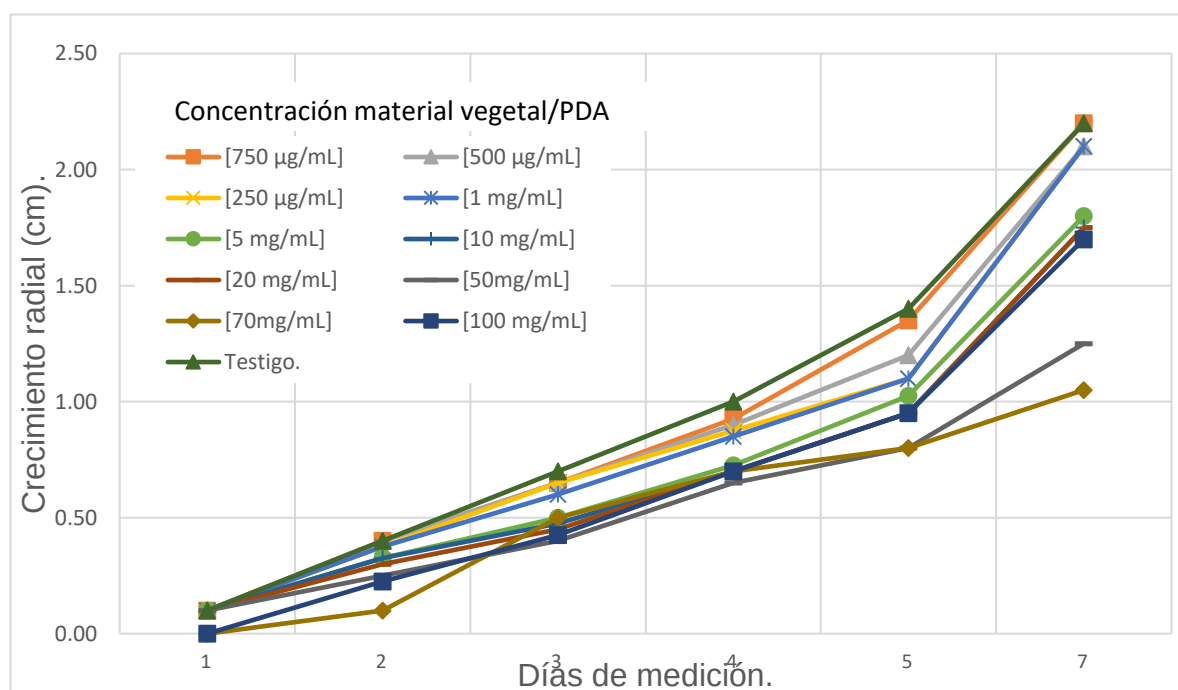
El mejor resultado se obtuvo con la concentración de 70 mg/mL con un crecimiento radial de 0.80 cm; el segundo mejor resultado se obtuvo con las concentraciones de 100 y 50 mg/mL, con un crecimiento radial registrado el séptimo día de observación de 1.10 cm en ambas concentraciones.

El crecimiento de *Fusarium* en PDA con extractos de naranja con contracciones de 20 mg/mL hasta 250 µg/mL fue variado. En la concentración de 20 mg se obtuvo un crecimiento radial de 1.50 cm; en el medio PDA con concentraciones de 10 y 5 mg/mL el crecimiento radial fue idéntico de 1.60 cm el séptimo día. Con la

concentración de 1 mg el crecimiento fue de 1.90 cm. En el medio cuya concentración fue de 250  $\mu\text{g}$  de naranja en 1 mL de agar se obtuvo un desarrollo radial de 1.95 cm. En el PDA con 500 y 700  $\mu\text{g/mL}$  se obtuvo un crecimiento radial de 2.0 cm, desarrollo similar al que se obtuvo en el Testigo que fue de 2.20 cm.

### 6.2.2.3. Toronja: cáscara.

En los extractos de toronja obtenidos usando etanol como disolvente se observó que el crecimiento de *Fusarium* tuvo variaciones de acuerdo con la concentración utilizada. La mayor inhibición fue en las concentraciones de 50 y 70 mg de toronja en 1 mL de agar, en la concentración de 70 mg/mL de agar se observó un crecimiento radial de 1.05 cm, seguido de la concentración 50 mg/mL con 1.25 cm de crecimiento radial de micelio (Fig. 7).



**Figura 7.-** Actividad antifúngica del extracto de toronja sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

En orden decreciente el desarrollo radial del micelio fue en función de la concentración de 100 mg/mL (1.70 cm), 20 y 10 mg (1.75 cm), 5 mg/mL (1.80 cm); el

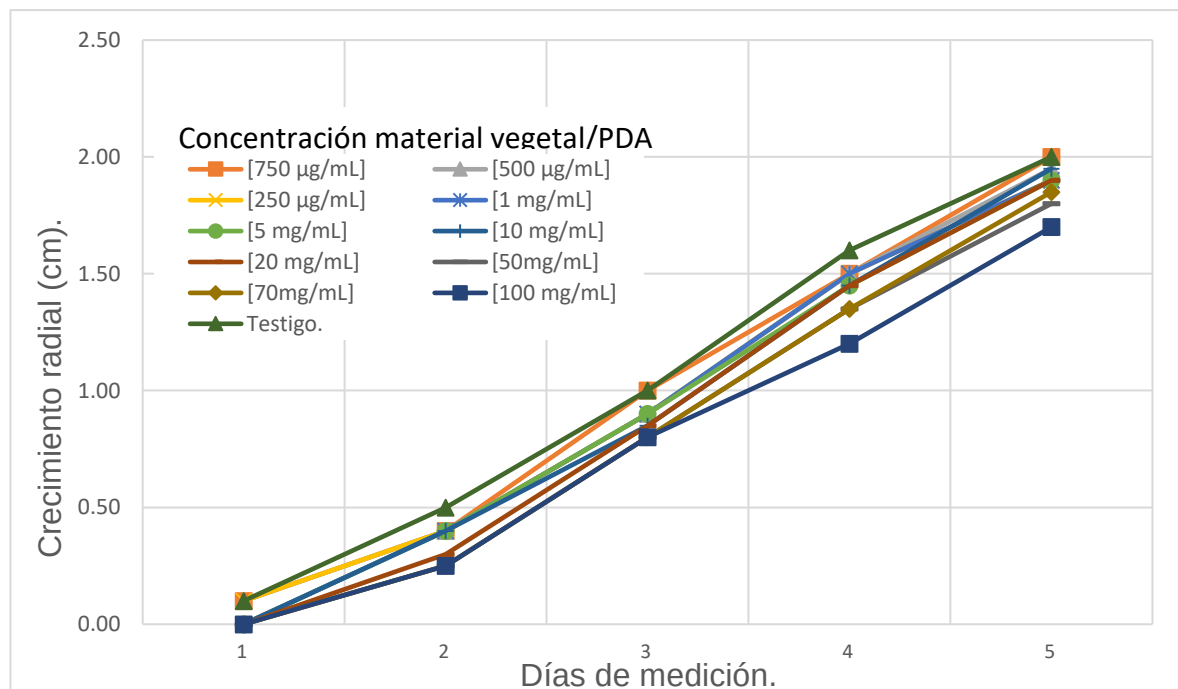
efecto de la concentración sobre la inhibición de *Fusarium* (2.10 cm) de 1 mg del extracto fue idéntico a las concentraciones de 250 y 500  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que con la concentración de 750  $\mu\text{g/mL}$  se obtuvo un desarrollo radial de 2.20 cm comportamiento similar al que se detectó en el Testigo (2.20 cm).

### 6.2.3. Extractos acuosos.

Las pruebas de inhibición de *Fusarium* a partir de extractos realizados con agua destilada y esterilizada se pudieron realizar utilizando cáscara de sábila, una mezcla entre pulpa y cáscara, cáscara de naranja, y cáscara de toronja. Con dichos extractos no se tuvo ningún problema para que se disolvieran el medio de cultivo PDA.

#### 6.2.3.1. Sábila: cascara.

El registro de la inhibición de *Fusarium* después de cinco días de observación utilizando agua destilada esterilizada como disolvente se representa en la Figura 8.

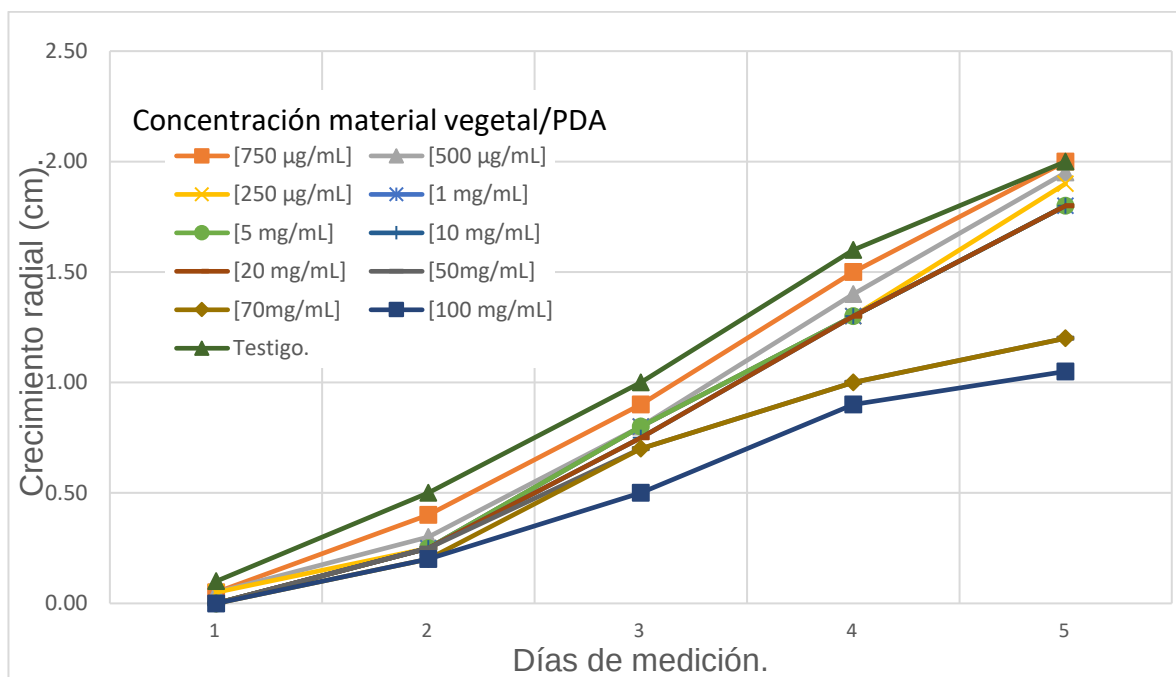


**Figura 8.-** Actividad antifúngica del extracto de sábila; cáscara sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

El potencial de inhibición en el crecimiento de *Fusarium* del extracto de sábila: cáscara fue mínimo, las concentraciones que obtuvieron los mejores resultados fueron las de 100 y 50 mg/mL. El mejor resultado se obtuvo al adicionar 100 mg/mL de extracto en agar, en dicho tratamiento el crecimiento radial fue de 1.70 cm, y el segundo mejor resultado fue con 50 mg/mL con 1.80 cm de crecimiento radial. En aquellos medios en que se adicionó 70 mg/mL de extracto se registró un crecimiento de 1.85 cm, y en concentraciones de 20, 5, 1 mg/mL y 250 µg/mL se obtuvo un crecimiento radial de 1.90 cm. Por otro lado, al adicionar 10 mg y 500 µg/mL de extracto el micelio creció hasta 1.95 cm. Con menor poder de inhibición se detectó en la concentración de 700 µg/mL con 2.0 cm idéntico al desarrollo del hongo que se observó en el Testigo.

#### **6.2.3.2. Sábila: cáscara y gel.**

Los extractos de sábila constituidos por cáscara y gel obtenidos usando agua destilada y esterilizada como disolvente mostraron un comportamiento variado sobre el crecimiento de *Fusarium*. Los mejores resultados se obtuvieron en las concentraciones de 100, 70 y 50 mg de extracto (Fig. 9).

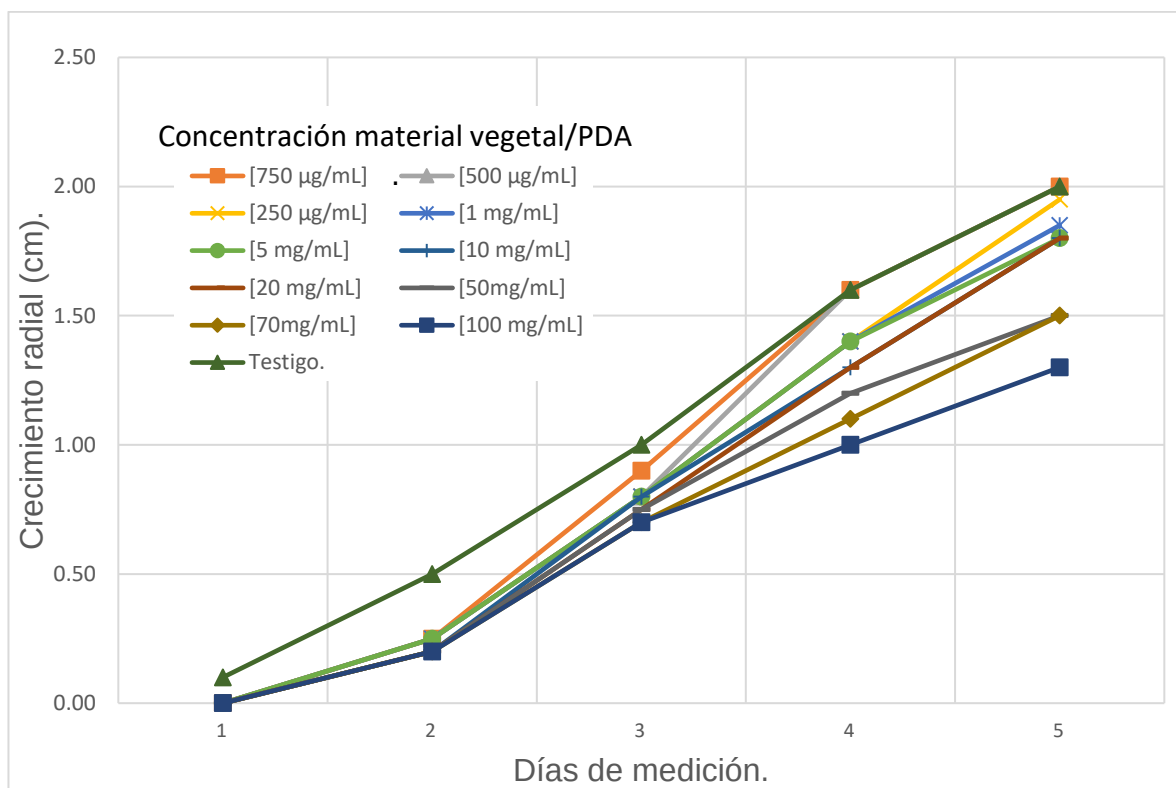


**Figura 9.-** Actividad antifúngica del extracto de sábila; cáscara y gel sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

La concentración que obtuvo mejor inhibición fue la de 100 mg de extracto con un crecimiento radial de 1.05 cm. La concentración de 70 y 50 mg/mL si demostraron inhibición ambas limitando el desarrollo del hongo a 1.20 cm de crecimiento radial. Con las concentraciones de 20, 10, 5 y 1 mg/mL de extracto el desarrollo del hongo fue de hasta 1.80 cm. En las concentraciones de 700 y de 250 µg/mL de extracto indujeron un crecimiento de 1.90 cm, similarmente a la concentración de 500 µg/mL con 1.95 cm en los tres casos se registraron crecimientos radiales muy cercanos al obtenido por el Testigo (2.0 cm de radio) que abarcó casi la totalidad de la caja Petri.

#### 6.2.3.3. Naranja: cáscara.

Al finalizar la evaluación de inhibición de los extractos de naranja sobre *Fusarium* se observó un variado crecimiento radial. Las concentraciones que obtuvieron mejores resultados fueron las de 100, 70 y 50 mg/mL de extracto (Fig. 10).

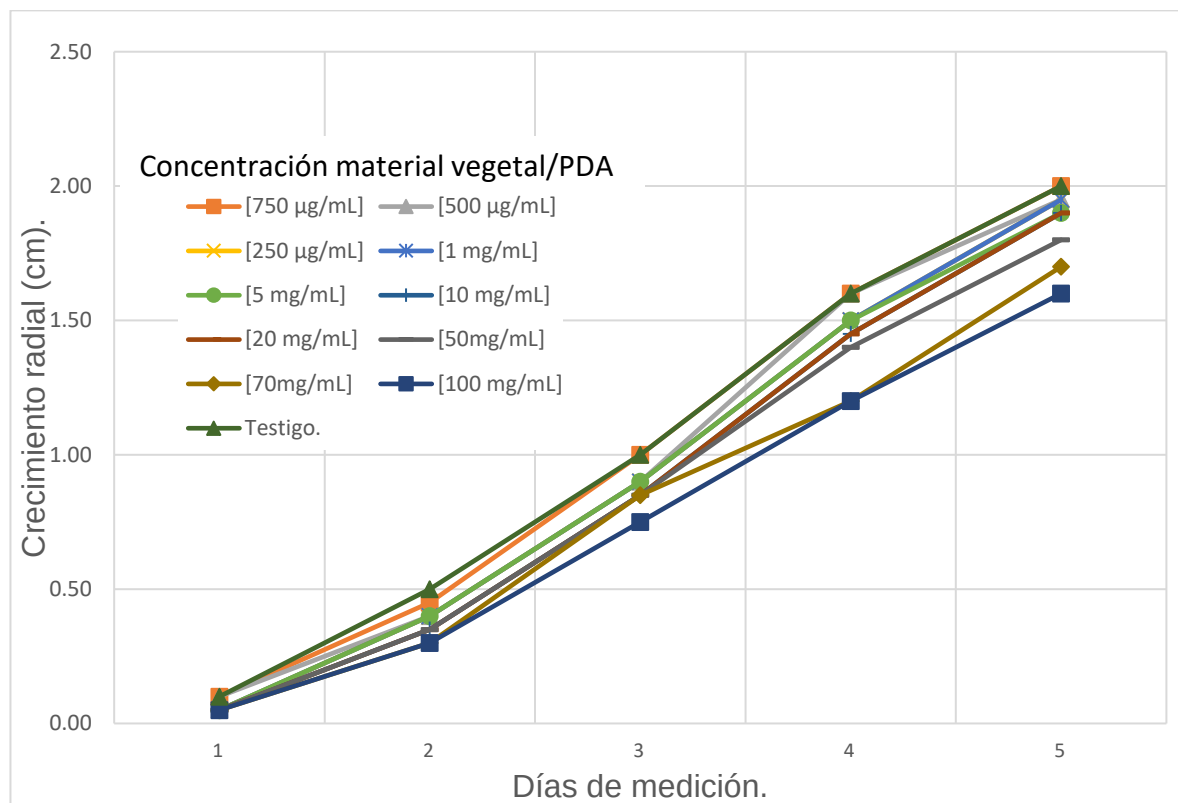


**Figura 10.-** Actividad antifúngica del extracto de naranja sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

La concentración que obtuvo mejor inhibición fue la concentración de 100 mg de extracto en la que se observó un crecimiento radial de 1.30 cm. El segundo mejor resultado se obtuvo en las concentraciones de 70 y 50 mg/mL en los que se observaron un crecimiento radial idéntico de 1.50 cm. En las concentraciones de 20, 10 y 5 mg/mL se obtuvo un mayor crecimiento radial de 1.80 cm. Para la concentración de 1 mg se observó un crecimiento radial de 1.85 cm, similarmente al registrado en la concentración de 250 µg/mL con 1.95 cm. En las concentraciones observadas de 500 y 700 µg/mL se obtuvieron similares crecimientos de 2.00 cm los cuales son idéntico al obtenido por el Testigo (2,00 cm).

#### 6.2.3.4. Toronja: cáscara.

En las concentraciones del extracto de toronja que fueron evaluadas se observó que la inhibición del crecimiento radial de *Fusarium* fue mínima y las mejores concentraciones fueron 100 y 70 mg de extracto (Fig. 11).



**Figura 11.-** Actividad antifúngica del extracto de toronja sobre el crecimiento radial del micelio de *Fusarium sp.*

En el mejor resultado se obtuvo en la concentración de 100 mg/mL se observó un crecimiento radial de 1.60 cm, seguido de la concentración de 70 mg/mL que obtuvo un crecimiento de 1.70 cm. En la concentración de 50 mg/mL se pudo observar que el potencial inhibitorio fue decreciendo ya que en esta concentración se observó un crecimiento radial de 1.80 cm, Para las concentraciones de 20, 10 y 5 mg/mL se observó un mínimo potencial inhibitorio obteniéndose un crecimiento radial de 1.90 cm. En las concentraciones de 1 mg, 250 y 500 µg/mL de extracto se observaron idénticos crecimientos radiales de 1.95 cm, muy cercanos a los obtenidos por la concentración de 700 µg/mL y el Testigo que obtuvieron un crecimiento radial idéntico de 2.00 cm.

## 7. DISCUSIÓN.

Los estudios fitoquímicos de los extractos vegetales permitieron determinar de modo cualitativo los compuestos químicos presentes en la cascara de sábila, en la cáscara y gel de la penca de sábila, en la cáscara de naranja y en la cáscara de toronja. En los extractos etanólicos los metabolitos secundarios identificados fueron lactona, taninos, grupo amino y xantonas/flavonas; en los extractos acuosos se pudieron identificar saponinas, saponina esteroide, lactona, leucantocianidinas, xantonas/flavonas, flavonoles, triterpenos esteroide y grupo amino.

Se identificaron presencias muy altas de lactonas en prácticamente todos los extractos vegetales a excepción de los extractos acuosos de sábila; metabolito que pudiera ser el responsable principal en la inhibición de *Fusarium*. Al respecto, Ruiz y Suarez (2015) mencionan que los grupos tiol de la cisteína parecen ser las dianas primarias de las lactonas sesquiterpénicas que dan lugar a la inhibición de diversas funciones celulares que conducen a las células a la apoptosis (muerte celular).

Para el extracto etanólico de toronja se obtuvo una presencia muy alta de grupo amino, y en el extracto de sábila se detectó la presencia de este mismo compuesto. En el extracto de naranja y toronja utilizando agua destilada y esterilizada se identificó la presencia muy alta de grupo amino. En una investigación realizada por Carda *et al* (2012) mencionan que los alcaloides son un grupo importante de aminos biológicamente activos, que son biosintetizados por algunas plantas para protegerse de insectos y otros animales depredadores. Wink y Schimmer (citado en Sepúlveda *et al* 2003) mencionan que los alcaloides tienen efectos inhibitorios en el crecimiento de microorganismos patógenos ya que poseen la capacidad de intercalarse con el ADN, deteniendo la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos.

En los extractos de sábila, naranja y toronja obtenidos con agua destilada y esterilizada como disolvente, se pudieron identificar saponinas y saponina esteroide. Ahumada (2016) menciona que entre las propiedades biológicas de la saponinas se

encuentra la antifúngica y su funcionalidad depende de la diversidad estructural que adopta este metabolito.

En la identificación de xantonas y flavonas, se obtuvo presencia muy alta en los extractos etanólicos de naranja y toronja, para el extracto acuoso de sábila: cáscara se detectó una presencia en positivo. Reyes *et al* (1997) indican que las xantonas son compuestos activos contra el crecimiento del hongo *Lenzites trabea* causante de pudrición morena de la madera.

En los extractos acuosos de naranja y toronja se identificó presencia alta de flavonoles. En el extracto etanólico de naranja y en el extracto de toronja, se obtuvieron presencias positivas del compuesto tanino, en abundancias similares al igual que al utilizar hexano como disolvente. Montes-Belmont (2009) menciona que los compuestos fenólicos (quinonas, flavonas, flavonoides, taninos y flavonoles) forman complejos con los aminoácidos nucleofílicos de las proteínas lo que conduce a la inactivación de los hongos fitopatógenos. En otra investigación conducida por Cartaya y Reynaldo (2001) mencionan que los flavonoides de naturaleza lipofílica (flavonas, flavanonas e isoflavanonas polimetoxiladas y/o isopreniladas), leucoantocianidinas y otras sustancias fenólicas actúan como compuestos antifúngicos en las plantas y constituyen verdaderas barreras frente al ataque de los hongos fitopatógenos ya que dichos metabolitos se pueden encontrar directamente en sus tejidos.

En las pruebas de inhibición de *Fusarium* se pudo observar que el extracto que demostró tener mayor potencial inhibitorio fue el extracto etanólico de sábila: cáscara y gel en concentración de 100 y 70 mg/ml con 100 y 65% respectivamente. En el extracto etanólico de cáscara de naranja: con 70 mg/mL de concentración con 63.63%, y extracto acuoso de sábila: cáscara y gel en 100 mg/mL con 47.5%.

Considerando los porcentajes de inhibición y al compararlos con otros autores se obtuvieron resultados similares. En estudios realizados por Torres (2017) menciona que los extractos vegetales de *Aloe vera* y *Moringa* afectaron en 95% el desarrollo de la germinación de esporas y en 68% el crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.*, y *Fusarium sp.* Barkai-Golan, (2001), menciona que se evaluaron

extractos de *A. vera* e indica que tiene una capacidad de inhibir la germinación de esporas de *Botrytis cinerea* en 95% y el crecimiento micelial en 68%, resultados similares a los obtenidos en este trabajo de 100 y 65% de inhibición de *Fusarium* con extractos etanólico de sábila. Por otro lado, Chuchuca (2019) indica que la mejor alternativa de control a la enfermedad denominada pudrición de corona en banano causada por hongos fue usando extractos etanólicos de *Aloe vera* al 2%. Resultado similar al obtenido aplicando extractos etanólicos de sábila obteniendo un 100% de inhibición de *Fusarium*.

Comparando los resultados de inhibición obtenidos en este trabajo con la investigación realizada por Aristizábal (2011) en que menciona que se encontraron varios tipos de metabolitos secundarios en los extractos de cáscaras y semillas de naranja y toronja, como flavonoides, fenoles, terpenos y glucósidos, pero a pesar de esto ningún extracto presentó inhibición frente a *Fusarium roseum*; se obtuvieron resultados similares en esta investigación usando extracto etanólico y acuoso de cáscara de toronja con 52 y 20% de inhibición respectivamente en cepas de *Fusarium*. Por otro lado, Gómez, (2014) menciona que el aceite esencial de cáscara de naranja (*Cítrus aurantium*), presentó actividad antifúngica con 94% de inhibición, comparado con el resultado obtenido en este trabajo por el extracto etanólico de naranja agria con 63.63% de inhibición de *Fusarium*.

En resumen de acuerdo con los resultados los tratamiento con mayor potencial para utilizarse como agentes fungicidas biológicos es el extracto a base de pencas de sábila en concentración de 100 mg/mL y como agente fungistático el extracto a base de cáscara de naranja en concentración de 70 mg/mL aunque se requiere profundizar en la investigación debido a las limitantes para identificar los metabolitos que realizaban la actividad antifúngica de las familias identificadas en el análisis fitoquímico de igual manera para cuantificar la presencia de estos en compuestos en los extractos Por lo tanto puede ser este trabajo es un presente positivo para el desarrollo de fungicidas biológicos a partir de extractos naturales provenientes de sábila y fungistáticos provenientes de cáscara de naranja que se

pudieran utilizar como alternativas o en combinación con el manejo tradicional que consiste en la aplicación de fúngicas químicos.

## 8. CONCLUSIÓN.

Se lograron obtener sin inconvenientes los extractos utilizando los disolventes etanol y agua destilada y esterilizada. El extracto con disolvente hexano fue eliminado; ya que contenía partes del disolvente y al ser un compuesto hidrofóbico no se logró una mezcla homogénea de medio PDA y extracto.

Los metabolitos identificados como las lactonas y el grupo amino en el extracto etanólico de sábila, y los metabolitos identificados lactona, taninos, xantonas/flavonas y grupo amino en el extracto etanólico de naranja, si pudieran estar influyendo con un papel importante en la inhibición de *Fusarium sp* ya que estos compuestos poseen varias actividades biológicas entre ellos la antifúngica.

Para el extracto acuoso de sábila: cascara y gel se entiende que las saponinas, lactona y xantonas/Flavonas identificadas en el tamizaje fitoquímico, pueden presentar actividad antifúngica y podrían ser los responsables de la inhibición de *Fusarium*.

La capacidad de inhibición de los extractos vegetales evaluados sobre el crecimiento radial de *Fusarium* fue mejor en aquellos en que se utilizó sábila: cáscara y gel a concentración de 100 mg/ml (100%).

Basado en los resultados obtenidos se puede decir que el extracto vegetal a base de sábila puede ser una opción para el control de *Fusarium*, pero es necesario profundizar en la identificación y cuantificación de los metabolitos presentes en el análisis fitoquímico y conocer cuáles son específicamente los que están realizando la actividad antifúngica y fungistática.

## 9. RECOMENDACIONES.

Especificar que metabolitos están presentes de las familias identificadas en el análisis fitoquímico cualitativo y conocer cuáles son los que están realizando la actividad inhibitoria, para probar in vitro en cepas de *Fusarium sp.*, precisar y corroborar los datos obtenidos en esta investigación.

Se recomienda obtener extractos de las diferentes etapas fenológicas del fruto de *Citrus* y hojas de la sábila, aplicarlos a *Fusarium sp* y comparar resultados con los obtenidos en esta investigación.

Se recomienda evaluar el extracto con mejor resultado en cultivos en campo, para conocer si son nocivos a la fauna biótica.

## 10.BIBLIOGRAFÍA.

- Agrios, G. N. 2005. Plant Phatology. Quinta edición. Academic Press. Nueva York. 803 p.
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D. y Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*): un subproducto con alto potencial biológico. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm., 45(3), 438-469p.
- Alfonso, M. (2002). Los plaguicidas botánicos y su importancia en la agricultura orgánica. Agricultura Orgánica 2. 26-30p.
- Altieri, M., Nicholls C. (2000). Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable. Serie textos básicos para la formación ambiental. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. 250p.
- Acuña I., Araya, M. (2017), Enfermedades de la papa: Pudrición seca o fusariosis, Instituto de Investigaciones Agropecuarias – INIA. Ficha técnica 48.
- Aristizábal, J. (2011). Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las cáscaras y semillas de tres especies de cítricos contra el hongo fitopatógeno *Fusarium roseum* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Ávalos, A., Rosique, E., Cappello, S. y Villarruel, J. (2018). Ascomicetes (Fungi: *Ascomycota*) del Parque Estatal Agua Blanca, Macuspana, Tabasco, México. Acta Botánica Mexicana. 122p.
- Bonatti, A. (1991). Formulation of plant extracts into dosage form. En R. O. B. Wijesekera (Ed.), The Medicinal Plant Industry. London: CRC Press. 106-107p.
- Barkai-Golan, R. (2001). Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables and Control. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 418 p.
- Cruz, J. (2007) “Más de 100 Plantas Medicinales en Medicina Popular Canaria”, Las Palmas. Obra Social de La Caja de Canarias.
- Cárdenas, C., (2014). Las plantas alelopáticas. Sangolquí, Ecuador. 202 p.
- Carda, M., Falomir, E., Alberto, J. y Murga, J. (2012). Química orgánica general: reactividad de los grupos principales: resolución de problemas. Castellón, España. Low Cost Books.

- Cartaya, O., y Reynaldo, I., (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14p.
- Chuchuca Gonzales, C. J. (2019) Control de hongos asociados a la pudrición de corona en los frutos de banano con extractos etanólicos de aloe vera (trabajo de titulación). UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador.
- Cepero, M., Restrepo, S., Franco, A., Cárdenas, M. y Vargas, N. (2012) *Biología de Hongos*. Bogotá, Colombia. Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes. 520p.
- Domínguez, R., Arzate, I., Chanona, J., Welti, J., Alvarado, J., Calderón, G., Garibay, V. y Gutiérrez, G. (2012). El gel de *Aloe vera*: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 11(1). 21p.
- Escamilla-García, M., Calderón-Domínguez, G., Chanona-Pérez, J. J., Mendoza-Madrigal, A. G., Di Pierro, P., García-Almendárez, B. E., ... & Regalado-González, C. (2017). Physical, structural, barrier, and antifungal characterization of chitosan–zein edible films with added essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2370.
- García, A., Carril, E., (2009) *Metabolismo secundario de plantas, Reduca (Biología)*, Serie Fisiología Vegetal, 119-145p.
- García, C., Durga, G., (2012), Septiembre – Diciembre. Ra Ximhai, 8(3) Universidad Autónoma Indígena de México Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. 1-10p.
- García, J., Sosa, E., Castillo, I., Fortis, M., Trejo, H., (2010), *Agricultura Orgánica*, Primera edición, Tercera parte, Universidad Juárez del estado de Durango, Durango, Dgo.
- Gómez, K. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus aurantium* L.) frente al hongo *Fusarium semitectum*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- Hernández, A., Bautista, S. y Velázquez, M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Rev. Fitotec., Mex.* 30(2). 119-123p.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Inifap). (2007). Variedades de toronja para suelos limoso de la Huasteca Potosina.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias  
Centro de Investigación Regional del Noreste sitio de negocios  
Huichihuayan. folleto para productores No. 10.

- Juárez, G., Sosa, M., y López, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*. 4(2), 14-23p.
- Kuhar, F., Castiglia, V. y Papinutt, L. (2013). Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos. *Revista boletín biológica*. 28(7). 11-18p.
- León, G. Osorio, M., Martínez, S. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*. 49(4), 8p.
- López-Benítez, A., López-Betancourt, S. R., Vázquez-Badillo, M. E., Rodríguez-Herrera, S. A., Mendoza-Elos, M., & Padrón-Corral, E. (2005). Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 183-190. Marcano, D., Hasegawa, M., 2002. *Fitoquímica Orgánica*. Universidad Central de Venezuela (U.C.V.). 588p. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223212>
- Martínez M, Betancourt J, Alonso N. (1996) Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de Aloe vera (Sábila). *Rev Cubana Plantas Medic*; 1: 18-20p.
- Maharachchikumbura, S., Hyde, K., Gareth, E., McKenzie, E., Bhat, J. y Dayarathne, M., Wijayawardene, N. (2016). Families of Sordariomycetes. *Fungal Diversity*. 79(1). 1-317p.
- Monzón, A., & Rodríguez Tudela, J. L. (s.f.). *Infecciones causadas por el género Fusarium*. Servicio de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Recuperado de <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Montes-Belmont, R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*, 29, 73-82p. Recuperado en 11 de febrero de 2020, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000100010&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100010&lng=es&tlng=es).

- Monzón, A., & Rodríguez-Tudela, J. L. (S/A). Infecciones causadas por el género *Fusarium*. Obtenido de <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>.
- Murphy, M (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol. Rev. 12: 564-582p.
- Nicolaisen, M., Supronienė, S., Kærgaard, N., Lazzaro, I., Henrik, S., and Fejer, J. 2009. Real-time PCR for quantification of eleven individual *Fusarium* species in cereals. J. Microbiol. Meth. 76:234-240p.
- Nelson, P.E. 1990. Taxonomy of fungi in the genus *Fusarium* with emphasis on *Fusarium oxysporum*. 27-35p. In Re. Ploetz(ed.). *Fusarium wilt of banana*. American Phytopathological Society Press. St. Paul.
- Okamura, M., Asaia, M., Hine, N. y Yagi, A. (1996). High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in Aloe species. Journal Chromatographic A 747, 225-231.
- Reyes, R., Jimenez, M. y Estrada, E. (1997). Antifungal Xanthones from *Calophyllum brasiliensis* Heartwood. Journal of Chemical Ecology. 23(7), 1901-1911p.
- Rivera, J. M. N. (2009). Marchitez del chile poblano (*Capsicum annuum* L.): identificación molecular del agente causal, detección en semillas, histopatología y alternativas de control. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México, 98 p.
- Ramírez, G., (2003), Fitoterapia, revisiones monográficas, *Aloe vera*, NATURA M, p26-31.
- Ruiz, E., y Suarez, M. (2015). Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 46(1), pp. 9-24.
- Robles-García M., Aguilar, J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales Del-Río J., Guerrero-Medina, P., Madrigal-Pulido, J., y Del-Toro-Sánchez C., (2016) identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER), Biotecnia / XVIII (3): 3-8
- Raymundo, T., Escudero, E., Soto, R., García, J., Romero, L. y Valenzuela, R., (2017). Nuevos registros de *Hypocreales* (*Sordariomycetes*, *Ascomycota*) del bosque mesófilo de montaña de la Sierra Alta Hidalguense en México. Acta Botánica Mexicana. 122, pp 39-57

- Reynolds, T. (2004). Aloes: The Genus Aloe. Medicinal and aromatic plants-industrial profiles Editorial CPR Press LLC, Boca Raton, Florida.
- Sánchez, G., Canché, B., y Kay, A., (2005), Hongos patógenos: enemigos versátiles, Ciencia - Academia Mexicana de Ciencias, 56(3), 71-75p.
- Santamaría, C., Martín, A., y Astorga, F., (2015, marzo), Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés. NutriNews. Recuperado de <https://nutricionanimal.info/extractos-vegetales-i-aplicacion-para-la-reduccion-del-estres/>
- Sepúlveda, G., Porta, H. y Rocha, M. (2003) La Participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología, 21(3), pp. 355-363.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2012). Análisis de riesgo de plagas para la importación de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). Dirección general de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México.
- Tapia, C., y Amaro, J., (2014) Programa de Microbiología y Micología Instituto de Ciencias Biomédicas Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
- Torres D. y Capote T., (2004), septiembre, Ecosistemas, 13(3), Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente, <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=50>, 2-6p.
- Torres, H. (2017) Efecto biofungicida del gel *Aloe vera* y extracto de moringa sobre la pudrición de corona en la fruta de banano (Trabajo de titulación). UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador.
- Troisi, j., Di Fiore, R., Pulvento, C., D'andria, R., Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Martínez, A., Lavini, A., (2014). Saponinas. Capítulo: 3.3. IN: BAZILE D. et al. (Editores), "Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013": FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): 3-30p
- Valencia-Ortíz. C. (1995). Fundamentos de Fitoquímica. Editorial Trillas.
- Verde, M., García, S., & Rivas, C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: OmniaScience. 1-40p.

- Villa, A., Pérez, P., Morales, H., Basurto, M. Soto, J., y Martínez, E., (2015), Situación actual en el control de *Fusarium spp.* y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales, *Acta Agronómica.*, 64(2) 194 – 205p.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. 2008. Antimicrobial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*. Volume 19, Issue 12, Pag 1130-1138
- Vivanco, J., Cosío, E., Loyola-Vargas E., Flores, H., (2005) Mecanismos químicos de defensa en las plantas, *Investigación y Ciencia*, febrero, 68-75p.
- Walton, N.J., & Brown, D.E. (1999). *Chemicals from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products*. Imperial College Press.
- Zacarés, L. (2008). Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate. identificación y estudio de moléculas implicadas en la respuesta a la infección con *Pseudomonas syringae* pv. tomato. Valencia. Tesis doctoral.

## ANEXOS.

Ensayo extracto etanólico.

Anexo 1.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanolico de sábila: cáscara y gel.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.89     | 999.11     |
| 500 µg/mL      | 0.59     | 999.4      |
| 250 µg/mL      | 0.29     | 999.71     |
| 1 mg/mL        | 1.19     | 998.81     |
| 5 mg/mL        | 5.96     | 994.03     |
| 10 mg/mL       | 11.92    | 988.07     |
| 20 mg/mL       | 23.85    | 976.14     |
| 50 mg/mL       | 49.26    | 950.73     |
| 70 mg/mL       | 68.97    | 931.04     |
| 100 mg/mL      | 119.20   | 880.80     |

Anexo 2.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanolico de toronja: cáscara.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.93     | 999.07     |
| 500 µg/mL      | 0.62     | 999.38     |
| 250 µg/mL      | 0.31     | 999.69     |
| 1 mg/mL        | 1.24     | 998.75     |
| 5 mg/mL        | 6.22     | 993        |
| 10 mg/mL       | 12.45    | 987.55     |
| 20 mg/mL       | 24.9     | 975.1      |
| 50 mg/mL       | 49.59    | 950.41     |
| 70 mg/mL       | 69.42    | 930.58     |
| 100 mg/mL      | 124.5    | 875.5      |

Anexo 3.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto etanolico de naranja agria: cáscara.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.93     | 999.06     |
| 500 µg/mL      | 0.62     | 999.37     |
| 250 µg/mL      | 0.31     | 999.68     |
| 1 mg/mL        | 1.24     | 998.75     |
| 5 mg/mL        | 6.21     | 993        |
| 10 mg/mL       | 12.42    | 987.6      |
| 20 mg/mL       | 24.85    | 975.15     |
| 50 mg/mL       | 48.37    | 951.67     |
| 70 mg/mL       | 67.66    | 932.34     |
| 100 mg/mL      | 124.29   | 875.71     |

Ensayo extracto acuoso.

Anexo 4.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de sábila: cáscara.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.7534   | 999.25     |
| 500 µg/mL      | 0.5023   | 999.49     |
| 250 µg/mL      | 0.2511   | 999.74     |
| 1 mg/mL        | 1.0046   | 998.99     |
| 5 mg/mL        | 5.02     | 994.97     |
| 10 mg/mL       | 10.04    | 989.95     |
| 20 mg/mL       | 20.09    | 979.9      |
| 50 mg/mL       | 50.23    | 949.76     |
| 70 mg/mL       | 70.32    | 929.67     |
| 100 mg/mL      | 100.46   | 899.53     |

Anexo 5.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de sábila: cáscara y gel.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.7507   | 999.24     |
| 500 µg/mL      | 0.5005   | 999.49     |
| 250 µg/mL      | 0.2502   | 999.74     |
| 1 mg/mL        | 1.001    | 998.99     |
| 5 mg/mL        | 5.005    | 994.99     |
| 10 mg/mL       | 10.01    | 989.98     |
| 20 mg/mL       | 20.02    | 979.97     |
| 50 mg/mL       | 50.05    | 949.94     |
| 70 mg/mL       | 70.07    | 929.92     |
| 100 mg/mL      | 100.1    | 899.89     |

Anexo 6.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de naranja agria: cáscara.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.7389   | 999.26     |
| 500 µg/mL      | 0.4926   | 999.5      |
| 250 µg/mL      | 0.2463   | 999.75     |
| 1 mg/mL        | 0.9853   | 999.01     |
| 5 mg/mL        | 4.92     | 995.07     |
| 10 mg/mL       | 9.85     | 990.14     |
| 20 mg/mL       | 19.7     | 980.29     |
| 50 mg/mL       | 49.26    | 950.73     |
| 70 mg/mL       | 68.97    | 931.02     |
| 100 mg/mL      | 98.53    | 901.46     |

Anexo 7.- Cálculo de dilución extracto-agar PDA para el extracto acuoso de toronja: cáscara.

| Concentración. | Extracto | medio PDA. |
|----------------|----------|------------|
| 750 µg/mL      | 0.7441   | 999.25     |
| 500 µg/mL      | 0.4961   | 999.5      |
| 250 µg/mL      | 0.248    | 999.75     |
| 1 mg/mL        | 0.9922   | 999.007    |
| 5 mg/mL        | 4.96     | 995.03     |
| 10 mg/mL       | 9.92     | 990.077    |
| 20 mg/mL       | 19.84    | 980.15     |
| 50 mg/mL       | 49.61    | 950.38     |
| 70 mg/mL       | 69.45    | 930.54     |
| 100 mg/mL      | 99.22    | 900.77     |