



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**FRUTICULTURA**

## **PROPAGACIÓN ASEXUAL, POR ESTACAS, DE HIGUERA (*Ficus carica* L.)**

**MARICELA ORTUÑO RAMOS**

### **T E S I S**

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

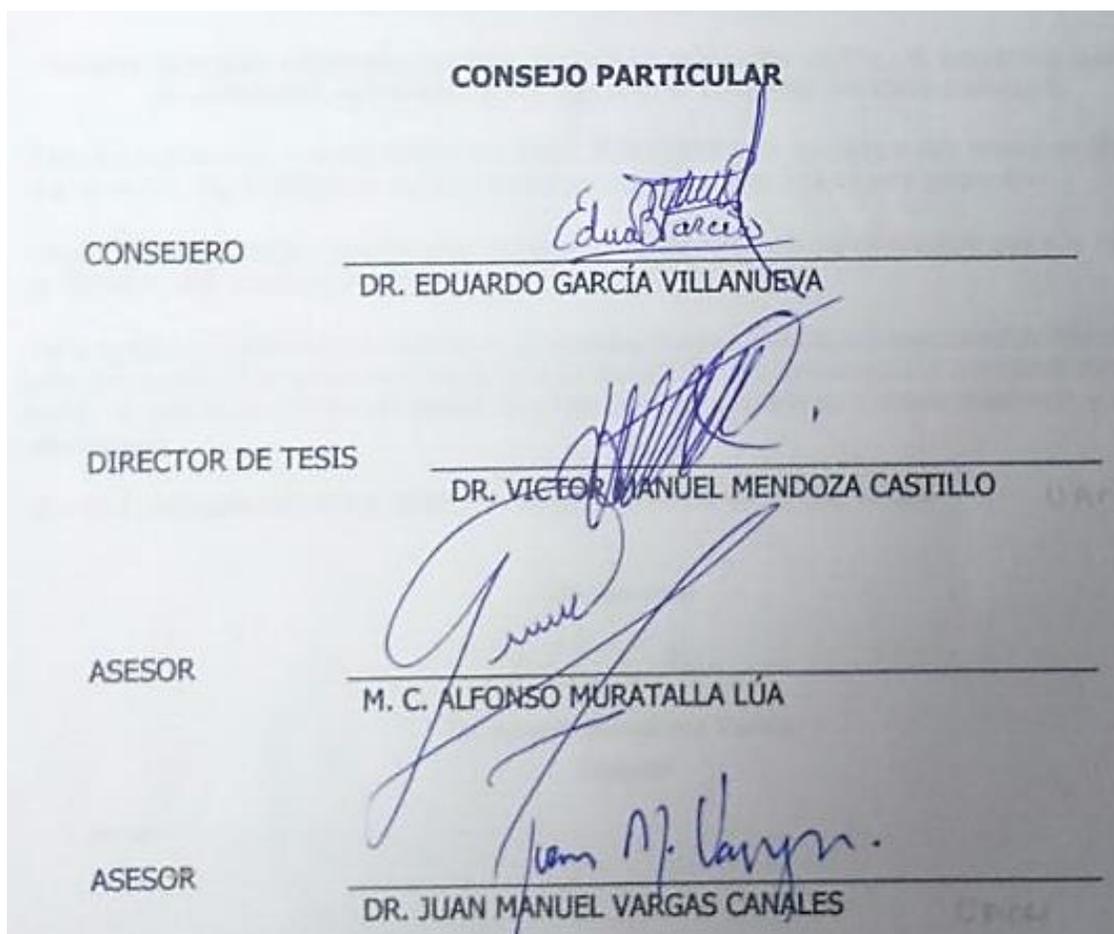
**2017**

La presente tesis titulada: **PROPAGACIÓN ASEJUAL, POR ESTACAS, DE HIGUERA (*Ficus carica* L.)**.

Realizada por la alumna: Maricela **Ortuño Ramos**

Bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FRUTICULTURA



Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio de 2017

# PROPAGACIÓN ASEXUAL, POR ESTACAS, DE HIGUERA (*Ficus carica* L.)

MARICELA ORTUÑO RAMOS, M. en C.  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS

## RESUMEN

El cultivo de higuera en México ha cobrado gran importancia, en los inicios de la explotación se introdujo el cultivo a cielo abierto, pero la planta es muy dulce y presenta características que la hacen muy propensa al ataque de plagas y enfermedades, por lo que su explotación resultó poco rentable, debido al ataque del barrenador del tallo (*Azochis gripusalis*) y problemas de hongos en raíz (*Aspergillus* y *Fusarium*). Para el año 2009 se implementó la explotación extensiva de higuera bajo invernadero, en este sistema producción se evitan los daños causados por plagas y enfermedades, además de elevar el rendimiento (80 t/ha), en donde la densidad de plantación es de 12 500 plantas, mientras que en el sistema a cielo abierto las densidades van de 600 a 800 plantas.

El incremento en el establecimiento del cultivo de la higuera bajo sistemas de producción intensivo demanda grandes cantidades de plántula, lo cual abre el paso a estudios de propagación que permitan tener plántulas en el menor tiempo posible, pues de manera natural las estacas de higuera tardan hasta tres meses para estar listas para su trasplante, en esta investigación se evaluó la propagación de la higuera mediante estacas en tres diferentes sustratos y tres extractos acuosos de plantas con acción fungistática y se determinó que el uso de arena sílica con extracto acuoso de pirúl permiten el desarrollo de las estacas de higuera en un tiempo de 21 días. Por otra parte se evaluó también el uso de extracto acuoso de plantas que ayuden al enraizamiento de estacas de higuera, y se observó que el Sauce, Nopal, Pitahaya y Millonaria, presentan ácidos que evitan la oxidación celular, reduciendo el estrés en las estacas.

**Palabras clave:** *propagación masiva, control de hongos, extractos vegetales, control orgánico.*

# PROPAGACIÓN ASEXUAL, POR ESTACAS, DE HIGUERA (*Ficus carica* L.)

MARICELA ORTUÑO RAMOS, M. en C.  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS

## ABSTRACT

The cultivation of fig trees in Mexico has become very important. At the beginning of the harvest, the cultivation was introduced in open air, but the plant is very sweet and has characteristics that make it very prone to attack by pests and diseases. (*Azochis gripusalis*) and root fungus problems (*Aspergillus* and *Fusarium*). For the year 2009 the extensive exploitation of fig under greenhouse was implemented, in this system production is avoided the damages caused by pests and diseases, besides raising the yield (80 t.ha), where the density of plantation is of 12 500 Plants, while in the open-pit system densities range from 600 to 800 plants.

The increase in the establishment of the fig tree crop under intensive production systems demands large quantities of seedling, which opens the way to propagation studies that allow seedlings to be grown in the shortest possible time, since the figs' cuttings naturally take up to Three months to be ready for transplantation, in this research the propagation of the fig tree was evaluated by stakes in three different substrates and three aqueous extracts of plants with fungistatic action and it was determined that the use of silica sand with aqueous extract of pirul allows the Development of the fig cuttings in a time of 21 days. On the other hand, it was also evaluated the use of aqueous extract of plants that help the rooting of fig cuttings, and it was observed that the Willow, Nopal, Pitahaya and Millonaria, present acids that avoid cellular oxidation, reducing the stress on the cuttings.

**Key words:** *Mass propagation, fungi control, plant extracts, organic control*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de esta investigación. Al pueblo de México, que hacen posible la aportación económica para las becas de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados campus Montecillo, en especial al posgrado de Recursos Genéticos y Productividad – Fruticultura, por permitirme la estancia en sus instalaciones para el desarrollo de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, en especial al Dpto. de Fitotecnia y al Dr. Victor M. Mendoza Castillo, por prestarme parte de sus instalaciones para el desarrollo experimental de esta investigación.

A mi consejo particular el Dr. Eduardo García Villanueva, Dr. Victor Manuel Mendoza Castillo, M.C. Alfonso Muratalla Lúa y al Dr. Juan Manuel Vargas Canales, por la aportación de sus conocimientos, tiempo dedicado y paciencia para la culminación de este trabajo.

A los maestros que contribuyeron con su granito de arena al compartir sus conocimientos en clases, para formarme en el posgrado. A todos los maestros con los que tome clase.

A mis compañeros de clase por compartir parte de su tiempo conmigo.

## DEDICATORIA

Con especial dedicación al ser más noble que he conocido, al ser con la capacidad de dar tanto amor sin prejuicios, siempre fuerte ante cualquier tempestad, a mi hermana **Karla Ortuño Arroyo**<sup>†</sup>

A mis padres Francisco Ortuño Calderón y Ernesta Ramos Cortes, quienes me han dado las fuerzas para seguir adelante.

A mis hermanos Javier, Angélica, Alicia, Vanessa, Wily, Francisco y Aarón, pues sus consejos, apoyo y amor me hacen ser mejor cada día.

A mis sobrinos Emilio, Lupita, Miguel, Israel, Franco, Yaretzy, Ximena, Yeimy y Karla Esperanza, pues son mi mayor inspiración, por ser unas personitas tan nobles y llenas de amor.

A Emilio, Ana, Miguel, Alejandro y Rosa, por ser parte de mi familia, por acompañar y hacer felices a mis seres queridos.

# CONTENIDO

	<b>Paginas</b>
<b>RRESUMEN.....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>v</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>vi</b>
<b>CONTENIDO .....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE CUADROS.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>CAPITULO I: LA PROPAGACIÓN Y EL ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS PARA SISTEMAS INTESIVOS DE PRODUCCIÓN DE HIGUERA.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3.1. Sistemas de propagación.....</b>	<b>4</b>
1.3.1.1.    Reproducción (Propagación sexual).....	<b>5</b>
1.3.1.2.    Reproducción o Propagación Asexual.....	<b>8</b>
<b>1.3.2. Propagación asexual de la higuera.....</b>	<b>9</b>

<b>1.4. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>10</b>
<b>CAPITULO II: EXTRACTOS VEGETALES COMO ENRAIZADORES PARA ESTACAS DE <i>Ficus carica</i> L. ....</b>	<b>13</b>
<b>2.1. RESUMEN.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2. ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.1. Características de las plantas utilizadas.....</b>	<b>16</b>
2.3.1.1.    Millonaria ( <i>Portulacaria afra</i> ).....	16
2.3.1.2.    Nopal ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	17
2.3.1.3.    Pitahaya ( <i>Hylocereus undatus</i> ).....	18
2.3.1.4.    Sauce llorón ( <i>Salix babylonica</i> ).....	20
2.3.1.5.    Siempreviva ( <i>Sedum praealtum</i> ).....	21
<b>2.3.2. Metabolitos secundarios.....</b>	<b>23</b>
2.3.2.1.    Terpenos.....	26
2.3.2.2.    Compuestos Fenólicos.....	30
2.3.2.3.    Glicósidos.....	35
2.3.2.4.    Alcaloides.....	37
<b>2.3.3. Técnicas de elaboración de extractos.....</b>	<b>38</b>

2.3.3.1. Maceración.....	38
<b>2.4. OBJETIVO.....</b>	<b>39</b>
<b>2.5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
2.5.1. Recolección del material vegetal para la preparación de enraizadores naturales.....	39
2.5.2. Desinfección del material vegetal.....	40
2.5.3. Maceración de las plantas utilizadas como enraizadores naturales.....	41
2.5.4. Obtención de las estacas de higuera.....	41
2.5.5. Preparación de la cama.....	42
2.5.6. Establecimiento del experimento.....	42
2.5.7. Variables respuesta.....	44
2.5.8. Diseño experimental.....	44
<b>2.6. RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
<b>2.7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>59</b>
<b>2.8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>2.9. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>61</b>

<b>CAPITULO III: EVALUACIÓN DE TRES FUNGISTÁTICOS VEGETALES EN TRES SUSTRATOS PARA LA PROPAGACIÓN POR ESTACAS DE HIGUERA (<i>Ficus carica</i> L.).</b>	<b>65</b>
<b>3.1. RESUMEN</b>	<b>65</b>
<b>3.2. ABSTRACT</b>	<b>66</b>
<b>3.3. INTRODUCCIÓN</b>	<b>67</b>
<b>3.3.1. Sustratos</b>	<b>67</b>
3.3.1.1. Selección de sustratos	69
3.3.1.2. Propiedades de los sustratos	70
3.3.1.3. Descripción de algunos sustratos	71
<b>3.3.2. Descripción de las plantas utilizadas como fungistáticas (Tomillo, pirúl y romero)</b>	<b>72</b>
3.3.2.1. Constituyentes principales del aceite esencial del tomillo	72
3.3.2.2. Constituyentes principales del pirúl ( <i>Schinus molle</i> )	75
3.3.2.3. Constituyentes principales del aceite esencial del romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	79
<b>3.4. OBJETIVO</b>	<b>79</b>
<b>3.5. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>80</b>

<b>3.5.1. Sitio experimental.....</b>	<b>80</b>
<b>3.5.2. Material vegetal.....</b>	<b>80</b>
<b>3.5.3. Materiales.....</b>	<b>80</b>
<b>3.5.4. Metodología.....</b>	<b>80</b>
3.5.4.1.    Preparación de infusiones.....	80
3.5.4.2.    Preparación de la cámara de enraizamiento.....	81
3.5.4.3.    Tratamientos, diseño y unidad experimental.....	82
<b>3.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>84</b>
<b>3.7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>95</b>
<b>3.8. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>96</b>

## Lista de cuadros

Cuadro	Páginas
1. Comparación de valores promedio para la variable sustratos, en características de raíz de higuera ( <i>Ficus carica</i> L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas.....	86
2. Comparación de valores promedio para fungistáticos, en características de raíz de higuera ( <i>Ficus carica</i> L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas.....	88
3. Comparación de valores promedio de la interacción sustratos con crecimiento vegetativo de higuera ( <i>Ficus carica</i> L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas.....	90
4. Comparación de valores promedio de la interacción fungistáticos con crecimiento vegetativo de higuera ( <i>Ficus carica</i> L.) en propagación clonar por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas.....	92

## Lista de figuras

<b>Figura</b>	<b>Páginas</b>
1. Experimento al abrir la cámara de enraizamiento después de 21 días.....	<b>46</b>
2. Tratamiento de tiempo cero en los cinco extractos vegetales, el Radix 3000® y el testigo.....	<b>47</b>
3. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Sauce llorón ( <i>Salix babylonica</i> ).....	<b>50</b>
4. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Millonaria ( <i>Portulacaria afra</i> ).....	<b>52</b>
5. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Nopal ( <i>Opuntia spp.</i> ).....	<b>53</b>
6. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Pitahaya ( <i>Hylocereus undatus</i> ).....	<b>55</b>
7. . Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Siempreviva ( <i>Sedum praealtum</i> ).....	<b>56</b>
8. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en Radix 3000®.....	<b>58</b>

# CAPITULO I: LA PROPAGACIÓN Y EL ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS PARA SISTEMAS INTESIVOS DE PRODUCCIÓN DE HIGUERA

## 1.1. RESUMEN

Es importante conocer los tipos de propagación que presentan las diferentes especies vegetales debido a que no todas pueden reproducirse sexualmente, por lo que se recurre a la propagación asexual, en este caso específico nos referimos a la propagación de la higuera.

Esta especie puede propagarse sexual y asexualmente, pero en el caso específico de su propagación en México debe ser mediante la propagación asexual, debido a que esta planta es originaria del Mediterráneo y fue introducida a México en la época de la colonia, por lo que no se trajo al polinizador (*Blastophaga psenes*).

Durante más de 500 años esta especie ha evolucionado para producir frutos partenocarpicos y preservarse por mucho tiempo en México. Este tipo de propagación les atribuye características favorables a los frutos ya que no presenta semillas fértiles, y su reproducción es totalmente asexual, pudiendo ser mediante esquejes, estacas, acodos, propagación in vitro, etc.

También debe ser de mayor importancia conocer cuáles son los tipos de propagación más efectivos para cada especie, los cuales nos aseguren su reproducción y la conservación de las características favorables de una especie ya establecida para la producción de alimentos. Así como también se debe conocer cuál es la técnica de reproducción de las plantas que nos permita adaptar nuevas

tecnologías durante su manejo y de esta manera asegure la producción de plantas en el tiempo, cantidad y espacio requerido, como lo es en el caso específico de la higuera.

## 1.2. ABSTRACT

It is important to know the types of propagation that the different plant species present so they can not be reproduced sexually, so they cover the asexual propagation, in this special case we refer to the propagation of the fig tree.

This species can be propagated sexually and asexually, but in the specific case of its propagation in Mexico must be by asexual propagation, because this plant originates from the Mediterranean and was introduced in Mexico at the time of the colony, reason why not It was brought to the pollinator (*Blastophaga psenes*).

For over 500 years this species has evolved to produce parthenocarpy fruits, and to conserve a long time in Mexico. This type of propagation attributes favorable characteristics to the fruits since they do not present fertile seeds, and their reproduction is totally asexual, being able to be used cuttings, stakes, layers, propagation *in vitro*, etc.

It should also be of more importance to know which are the most effective types of propagation for each species, which ensure their reproduction and the conservation of the favorable characteristics of a species and established for food production. As well as what should be the technique of reproduction of the plants that does not adapt to the new technologies during their handling and this way

assures the production of plants in the time, the quantity and the space required, as it is in the specific case the fig tree.

### 1.3. INTRODUCCIÓN

En 2014 en México el cultivo de higuera ocupó una superficie de 1,345.05 ha sembradas, con una producción de 6,082.84 toneladas y un rendimiento de 5.03 t·ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2016), en los siguientes estados: Hidalgo, Puebla, Durango, Coahuila, Veracruz, San Luis Potosí, Guanajuato, entre otros pero los principales estados productores son Morelos y Baja California sur con una superficie sembrada de 764.50 y 300.00 ha, respectivamente, donde se registra una producción de 815.85 y 676.18 3 ton, respectivamente, rendimiento promedio de 5.26 t·ha<sup>-1</sup> de higo (SIAP, 2016). Actualmente se exportan cerca de 5 toneladas de higo hacia Estados Unidos producidos en Morelos y Puebla, donde la SAGARPA tiene registrados 23 huertos de higo con una superficie de 63 hectáreas en Morelos y tres huertos con una superficie de 33.5 hectáreas en Puebla.

El cultivo de la higuera ha sido motivo de grandes programas de gobierno desde la segunda mitad del siglo XX en los estados de Morelos, Puebla, Hidalgo y Baja California Norte y Baja California Sur donde con el paso del tiempo han terminado por fracasar debido al ataque de plagas como el barrenador del tallo (*Azochis gripusalis*), la araña roja (*Tetranychus urticae*), diferentes especies de pájaros, la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el acentuado ataque de nematodos (Macías *et al.* 2013).

El cultivo de la higuera ha cobrado importancia en los últimos cinco años y nuevos estados de la Republica están adoptando un sistema de producción intensiva (Macías *et al.* 2013) en donde la demanda de plántula es cada vez mayor debido a que la densidad de población propuesta para estos sistemas es de 12500 plantas por hectárea (Mendoza-Castillo *et. al.*, 2016).

Los bajos rendimientos obtenidos a cielo abierto y la pérdida progresiva de la productividad de los árboles desalentó a los productores por muchos años, pero con el desarrollo de la tecnología actual se ha renovado el interés por el cultivo bajo producción intensiva debido a los rendimientos que se alcanzan al superar las 40 t·ha<sup>-1</sup> y 80 t·ha<sup>-1</sup> dependiendo del sistema de producción que se adopte (Mendoza-Castillo *et. al.*, 2016). Además de que empresas francesas y canadienses han hecho contratos con productores de higo en México para su exportación, generando una mayor demanda de este fruto (Macías *et al.* 2013).

El desarrollo de la tecnología de la producción de higuera en México, bajo cubierta plástica (Mendoza-Castillo *et. al.*, 2016) ha generado la necesidad de la propagación masiva para dar respuesta a las altas densidades por unidad de superficie que se plantea en este sistema.

### **1.3.1. Sistemas de propagación**

Las plantas se reproducen sexual y asexualmente: cuando las plantas se reproducen por medio de sus semillas se denomina reproducción o propagación sexual, mientras que cuando las plantas se reproducen mediante algún otro órgano

de la planta que no sean sus semillas se denomina multiplicación o reproducción asexual (Tiscornia, 1995).

#### **1.3.1.1. Reproducción (Propagación sexual)**

La reproducción sexual o por semillas es uno de los mecanismos más comunes en la naturaleza y además uno de los más eficientes (Kains and McQuesten, 1939). Este tipo de reproducción implica la unión de células sexuales masculinas y femeninas, la formación de semillas y la creación de individuos con nuevos genotipos debido a la variación genética que proporciona la meiosis y la fecundación a partir de la germinación de semillas, es el principal método por el cual se propagan los cultivos anuales y bianuales (Hartmann *et al.*, 1990).

El ciclo de vida de una planta que produce semillas puede ser dividido en dos grandes periodos: el vegetativo y el reproductivo. Cuando una planta crece, durante el estadio vegetativo, predominan procesos como la elongación del tallo y de las raíces, y el aumento de volumen de la planta (Hartmann *et al.*, 2002). La importancia biológica de la semilla es que en esta se encuentran una gran combinación de los recursos genéticos, además de que en muchos casos están adaptadas para la dispersión, por lo que de ellas depende la repoblación el desplazamiento dentro de la misma comunidad y la expansión a nuevos hábitats (Kains and McQuesten, 1939).

Durante la maduración de las semillas se desarrollan mecanismos internos que regulan la época de germinación, de modo que coincida con periodos en los que haya condiciones ambientales favorables (Hartmann *et al.*, 2002), cuando las

condiciones son favorables muchas semillas pueden germinar en menos de tres días; otras parecen requerir tres o más semanas, existen semillas que no germinan en condiciones normales durante un año o más. Si las semillas no germinan aun dándoles condiciones favorables son consideradas como semilla latente, esto significa que la semilla es incapaz de germinar por condiciones internas o por condiciones ambientales existentes al momento de la imbibición (Fern, 1999).

La semilla madura contiene en un embrión joven, endospermo y la cubierta seminal. El proceso de germinación comprende una compleja secuencia de cambios bioquímicos, morfológicos y fisiológicos en donde se observan varias etapas: (1) activación o imbibición que comienza con la absorción del agua por la semilla seca, lo cual provoca el ablandamiento de sus cubiertas y la hidratación del protoplasma (Mahlstede and Haber, 1957). La absorción de agua provoca que la semilla se hinche y pueda romper sus cubiertas; (2) actividad enzimática y respiratoria, este estado principia con la iniciación de la actividad celular e incluye la síntesis de enzimas específicas y una elevación de la tasa de respiración provocada por la alta actividad celular; (3) digestión enzimática y asimilación de los materiales de reserva como carbohidratos, grasas y proteínas, presentes en el endospermo, cotiledones o perispermo (Kains and McQuesten, 1939). Los materiales digeridos por la actividad enzimática son translocados a las zonas de crecimiento activo ápices y meristemas; y (4) crecimiento de la plántula por el proceso ordinario de mitosis celular y crecimiento (Hartmann *et al.*, 1990).

El término latencia se define como la suspensión temporal del crecimiento de cualquier parte de la planta debido a factores externos o internos (Sadhu, 1989). La

latencia puede ser primaria, este tipo de latencia se presenta cuando una semilla es separada de la planta, lo que impide la germinación inmediata y regula el tiempo y condiciones para la germinación (Mahlstede and Haber, 1957). La latencia secundaria es un mecanismo de supervivencia que puede ser inducido en condiciones ambientales desfavorables y puede retrasar aún más el tiempo de germinación (Hartmann *et al.*, 2002). La latencia primaria puede ser; física y mecánica que es causada por la impermeabilidad o dureza de la testa; química, que puede ser causada por la presencia de sustancias químicas tanto en la testa como en el embrión; morfológica, la cual es causada por la falta o el desarrollo incompleto del embrión al momento de la dispersión; fisiológica, es causada por que la semilla tiene requisitos o condiciones ambientales más específicas que para semillas no latentes (Fern, 1999).

Existen tratamientos para romper la latencia en las semillas tales como: la escarificación mecánica que consiste en la ruptura, rayado o alteración mecánica de las cubiertas de la semilla para hacerlas permeables al agua o a los gases, otra forma es aplicando tratamientos con ácido sulfúrico para modificar la cubierta seminal dura o impermeable de la semilla (Kains and McQuesten, 1939), y la estratificación donde se somete a las semillas a bajas temperaturas que con frecuencia se requieren para obtener una germinación pronta y uniforme y aplicando tratamientos con giberelinas los cuales aumentan la velocidad de germinación y estimulan el crecimiento de las plántulas (Hartmann *et al.*, 2002).

#### **1.3.1.2. Reproducción o Propagación Asexual**

La propagación asexual conduce a la perpetuación de genotipos superiores con gran ventaja en el mejoramiento genético ya que puede obtenerse un número grande de individuos genéticamente idénticos (Hartmann and Kester, 1975).

Muchas plantas se propagan en condiciones naturales por medios asexuales. La multiplicación asexual es posible ya que cada una de las células de un vegetal, posee la capacidad de multiplicarse, diferenciarse y generar un nuevo individuo idéntico al original. A esta característica se le denomina totipotencialidad (Fern, 1999). La multiplicación asexual se efectúa por medio de partes de la planta diferentes a la semilla sexual tales como: tallos (estacas, tubérculos, bulbos, rizomas y estolones) (Sadhu, 1989), hojas, hijuelos, yemas, meristemos, callos, células somáticas, protoplastos o embriones asexuales producidos por apomixis y es posible porque en muchas de estos órganos vegetativos tienen capacidad de regeneración.

Las hojas pueden regenerar nuevos tallos y raíces como en la violeta africana (Hartmann *et al.*, 2002). Este tipo de reproducción se utiliza en la propagación de plantas que no producen semillas viables, también se emplea para perpetuar una forma particular de la planta de interés con características genéticas a conservar, incrementando la velocidad de obtención de plantas, acortando su periodo de juvenilidad, y en algunas especies la propagación vegetativa es más fácil, más rápida y más económica que por semilla (Fern, 1999; Hartmann *et al.*, 2002; Sadhu, 1989).

Para la iniciación de raíces adventicias en estacas, se necesitan ciertos niveles de sustancias naturales y vegetales de crecimiento como: auxinas, las cuales se sintetizan en las yemas apicales y hojas jóvenes; citocininas, las cuales estimulan la división celular; giberelinas las cuales inhiben la formación de raíces (Hartman *et al.*, 1990). El proceso del desarrollo de las raíces adventicias en las estacas de tallo pueden dividirse en tres fases: (1) iniciación de grupos de células meristemáticas (las iniciales de la raíz); (2) diferenciación de esos grupos de células en primordios de raíz, y (3) de otros tejidos del tallo y la formación de conexiones vasculares con los tejidos conductores de la estaca (Hartmann *et al.*, 2002).

### **1.3.2. Propagación asexual de la higuera**

Los estudios realizados en la propagación de la higuera (*Ficus carica L.*) mediante el método de propagación por estacas recomiendan la utilización de estacas leñosas apicales estratificadas en frío, tratadas con 2000 mg L<sup>-1</sup> de ácido indol butírico (AIB) (Pio *et al.*, 2010).

En Brasil se recomienda obtener las estacas en el mes de julio (lo equivalente a diciembre en México) y enterrarlas  $\frac{3}{4}$  de su longitud en arena humedecida (Hofstaetter *et al.*, 2010) El porcentaje de humedad del sustrato (arena) más favorable para el establecimiento de las estacas es del 30% a 10°C (Takagaki *et al.*, 1997).

Los esquejes deben ser sin yema apical establecidos en un sustrato de arena y tierra (1:2) (Pio *et al.*, 2008). En invernadero climatizado al 50% de luz, el sistema de riego debe ser en niebla intermitente (Paula *et al.*, 2009). Así mismo a las estacas

se les aplica cianamida de hidrogeno (10 ml/L) en la parte apical después de un ligero corte (Ohland *et al.*, 2009).

Los autores citados anteriormente coinciden con que el tiempo desde que se establece la estaca hasta que se obtienen las raíces y los brotes vegetativos son de 60 a 70 días.

En esta investigación, se busca reducir el tiempo de brotación y enraizamiento mediante la interacción de los diferentes factores que intervienen en dicho proceso como: luz, humedad relativa, temperatura del ambiente, tipos de sustratos, tipo de contenedores, y concentraciones de hormonas, controlando la contaminación por hongos fitopatógenos.

#### **1.4. LITERATURA CITADA**

Fern, R. 1999. Introduction. In: Toogood A. American horticultural society. Plant propagation. DK Publishing, inc. London. 320 pp.

Hartman, H. and D. Kester. 1976. Propagación de plantas: principios y prácticas. Compañía Editorial Continental, S. A. México, D. F. 810 pp.

Hartman, H., D. Kester and F. Davies. 1990. Plant propagation: principles and practices. Fifth Edition. Regents/Prentice hall. New Jersey. 647 pp.

Hartmann, H., D. Kester, F. Davies and R. Geneve. 2002. Hartmann and Kester's: Plant propagation, principles and practice. Seventh edition. Prentice Hall. New Jersey. 880 pp.

- Hofstaetter, J. K., R. Pio, M. A. Campagnolo, I. M. Dalastra, P. N. Curi, and H. A. Moura. 2010. Rooting of fig tree apical cuttings 'Roxo de Valinhos' in plants with lopping system. *Scientia Agraria*. 11(3): 211-214.
- Kains, M. and L. McQuesten. 1939. Propagation of plants. Orabge judd publishing company, Inc. New York. 555 pp.
- Macías R. H., M. M. Villa-Castorena, A. Muñoz-Villalobos, M. A. Velásquez-Valle, M. R. González y M. C. Potisek -Talavera. 2013. Enraizamiento y brotación de vareta de higuera en contenedores de plástico cerrados: resultados preliminares. *Agrofaz*. 13(2): 37-44.
- Mahlstede, J. and E. Haber. 1957. Plant propagation. John Wiley & Sons, Inc. New York. 413 pp.
- Mendoza-Castillo V. M., J. M. Vargas-Canales, G. Calderón-Zavala, M. C. Mendoza-Castillo and A. Santacruz-Varela. 2016. Intesive production systems of fig (*Ficus carica* L.) under greenhouse conditions. *Experimental Agriculture* 53: 338-350,
- Ohland, T., R. Pio, E. A. Chagas, W. Barbosa, I. M. Dalastra and T. E. Kotz. 2009. Rooting of apical hardwood cuttings of fig tree 'Roxo de Valinhos' with application of IBA and hydrogen cyanamide. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 31 (1): 273.

- Paula, L. A. de, L. S. Correa, A. C. Boliani and P. C. Santos. 2009 Effect of indolbutiric acid and times of cutting on rooting of herbaceous cuttings of fig (*Ficus carica* L.). *Acta Scientiarum - Agronomy*. 31 (1): 87-92.
- Pio, R., I. M. Dalastra, M. A. Campagolo and V. M. Celant. 2008. Different substrates, environment and the presence of apical bud for rooting of cuttings from fig tree. *Scientia Agraria*. 9 (4): 463-467
- Pio, R., T. Ohland, E. A. Chagas W. Barbosa, I. M. Dalastra, M. A. Campagnolo and J. E. Bettiol. 2010 Rooting of apical cuttings of fig plants cv. 'Roxo de Valinhos' treated with cold-humid stratification and IBA. *Revista Ceres*. 57 (3): 401-404.
- Sadhu, M. K. 1989. *Plant propagation*. Wiley Eastern Limited. New Delhi. 287 pp.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2016. SAGARPA. <http://www.siap.gob.mx/siacon/>
- Takagaki, M., Y. Udagawa and E. Takahashi. 1997. Effect of pretreatment on rooting and shoot growth of *Ficus carica* L. cuttings. *Technical Bulletin of Faculty of Horticulture, Chiba University*. 51:227-230
- Tiscornia, J. R. 1995. *Multiplicación de las plantas: frutales-forestales-de adorno, injertos, viveros e invernáculos*. Editorial Albatros. Argentina. 213 pp.

## **CAPITULO II: EXTRACTOS VEGETALES COMO ENRAIZADORES PARA ESTACAS DE *Ficus carica* L.**

### **2.1. RESUMEN**

El cultivo de higuera en un sistema intensivo bajo invernadero se trabaja con altas densidades de población, es por todos conocido que la higuera es de muy fácil enraizamiento, pero en nuestro trabajo de investigación se contempló el uso de extractos vegetales de diferentes especies, con la finalidad de estimular las estacas de higuera para la emisión de raíces en el menor tiempo posible, en estudios anteriores se determinó que el tiempo de enraizamiento a altas densidades era de 21 días en cámaras rústicas, utilizando un enraizador comercial. En este caso los extractos vegetales funcionarían como enraizadores o bien como para evitar el estrés en las estacas. Se utilizó un extracto acuoso para hojas y tallos tiernos de sauce, siempre viva, millonaria, nopal y pitahaya, en donde los tratamientos consistieron en dejar reposando la estaca de higuera en los extractos por seis tiempos, el tiempo uno fue solo pasar las estacas por el extracto y sembrarlas inmediatamente, el tiempo 2 fue de 30 minutos en el extracto, el tiempo 3 durante 1 hora en el extracto, el tiempo 4 durante 2 horas en el extracto, el tiempo 5 durante 3 horas en el extracto y el tiempo 6 durante 4 horas en el extracto, por lo que resultaron 42 tratamientos, se tomó a una estaca como unidad experimental, con cinco repeticiones por tratamiento.

Al trabajar con plantas mucilaginosas en un ambiente cerrado con alta humedad relativa, se tienen problemas de contaminación debido a la rápida

reproducción de hongos en el ambiente, en este experimento no se obtuvieron los resultados esperados, debido a que en cada intento de establecer el experimento se tenía mucha contaminación o bien las estacas se deshidrataban, por lo que a los 21 días de establecido el experimento no se tuvieron resultados favorables.

Se recomienda que se realice el experimento de forma individual, es decir evaluar el extracto de cada una de las especies, pero en cámaras de enraizamiento separadas, pues en todos intentos, el tratamiento del extracto de siempre viva presentaba al menos una estaca con raíces (pocas).

## **2.2. ABSTRACT**

The fig tree cultivation in an intensive system under greenhouse is working with high population densities, it is widely known that the fig tree is very easy to rooting, but in our research the use of vegetal extracts of different species was contemplated, with the In order to stimulate the cuttings of fig trees for the emission of roots in the shortest possible time, in previous studies it was determined that the time of rooting at high densities was of 21 days in rustic chambers, using a commercial rooting machine. In this case the plant extracts would serve as rooting or to avoid stress on the cuttings. An aqueous extract was used for leaves and tender stems of willow, always alive, millionaire, nopal and pitahaya, where the treatments consisted of letting the fig tree stand in the extracts for six times, one time was to only pass the stakes through The extract and seeded immediately, time 2 was 30 minutes in extract, time 3 for 1 hour in extract, time 4 for 2 hours in extract, time 5

for 3 hours in extract and time 6 For 4 hours in the extract, resulting in 42 treatments, a stake was taken as an experimental unit, with five replicates per treatment.

When working with mucilaginous plants in a closed environment with high relative humidity, there are problems of contamination due to the fast reproduction of fungi in the environment, in this experiment the expected results were not obtained, because in each attempt to establish the experiment Was contaminated or the cuttings were dehydrated, so that after 21 days of established the experiment had no favorable results.

It is recommended that the experiment be carried out individually, ie to evaluate the extract of each species, but in separate rooting chambers, since in all attempts, the treatment of the ever living extract had at least one stem with roots (Few).

### **2.3. INTRODUCCIÓN**

El estudio del uso de las plantas como promotores de enraizamiento ha tenido gran importancia desde hace más de una década, existen diferentes reportes que indican el uso de extractos acuoso de plantas para estimular el enraizamiento en la propagación in vitro, como es el caso de Rodríguez G. H, et al.(2004), en Cuba, donde evaluaron el uso del extracto acuoso del gel de Aloe vera y otras plantas medicinales, donde los resultados fueron favorables en cuanto al enraizamiento para el caso del extracto acuoso de sábila, reportando a este como una fuente rica en aminoácidos (ácido glutámico y arginina), lactatos y ácidos orgánicos, que son

considerados como materiales hidrofílicos que incrementan la hidratación de los tejidos.

Chiqui y Verdugo (2014), reportan el uso eficiente del fermentado de frutas con melaza, para el enraizamiento favorablemente de estacas de mora, en Cuenca Ecuador, las cuales fueron dejadas durante 120 días en sustratos favorables para el enraizamiento.

Así mismo se reportan casos en donde los extractos de algunas plantas son utilizados como auxiliares en el proceso de propagación in vitro, con la finalidad de que sirvan como antioxidantes, como el *Salix humboldtiana*, *Plantago lanceolata*, *Matricaria recutita*, *Matricaria recutita*, en donde la presencia de metabolitos secundarios como el ácido salicílico, evitan la oxidación celular, lo que permite que las estacas, o explantes, utilicen sus reservas para emitir raíces en lugar de controlar el estrés (Rodríguez y Hechevarria , 2004).

En esta investigación se utilizaron especies, que de manera natural enraízan fácilmente, especies suculentas, que reportan la presencia de ácido salicílico, ácido indolacético, ácido ascórbico u otro tipo de compuestos que ayudan a evitar la oxidación celular. Y a continuación se describen las plantas utilizadas.

### **2.3.1. Características de las plantas utilizadas**

#### **2.3.1.1. Millonaria (*Portulacaria afra*)**

La millonaria (*Portulacaria afra*) es una especie perenne, con hojas suculentas pequeñas y endémica de los climas mediterráneos del sur de África

(Guralnick y Ting, 1987). Esta especie pertenece a la familia Portulacaceae que consiste en al menos 20 géneros con alrededor de 500 especies, todas de distribución cosmopolita (Cronquist, 1981). Este arbusto o pequeño árbol está incluido en la lista de los árboles forrajeros más utilizados en Sudáfrica (Oakes, 1973). El valor económico y estético de esta planta se debe a su amplia distribución y sus posibles formas de utilización (Oakes, 1973).

#### **2.3.1.2. Nopal (*Opuntia ficus-indica*)**

El nopal (*Opuntia* spp) es un género de la familia Cactaceae (Salim *et al.*, 2009) (Scheinvar, 1999) cuyas especies se encuentran distribuidas especialmente en las regiones áridas y semiáridas de América. México, por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y clima es el país que alberga la mayor cantidad de especies (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978). Hay casi 300 especies del género *Opuntia* desde Canadá hasta la Patagonia. En México se registraron 104 especies y variedades; sin embargo, sólo diez o doce son utilizadas por el hombre (Scheinvar, 1999).

En el centro del país se destaca la importancia del nopal como fruto debido a que en el valle de México alcanza su mayor producción (Bautista, 1982). El consumo de la tuna era común entre los nativos de los altiplanos de México durante la época prehispánica (Inglese, 1999).

La producción de nopal para verdura (nopalitos) se concentra en el centro de México, en donde se tiene casi todo el año con excepción de los meses de invierno, cuando ocurren heladas en el Altiplano Mexicano. El nopal se utiliza en el Norte de

México en las áreas marginales para la agricultura tradicional, como forraje a manera de suplemento alimenticio para el ganado (Pimienta, 1990).

Finalmente, en el sur de México, el nopal se destaca principalmente por la producción de grana. La grana o cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) es un insecto que produce el carmín, un colorante rojo que ha vuelto a tomar importancia a raíz que se prohibieron los colorantes artificiales en 1976, porque son cancerígenos (Flores-Valdez, 2003).

En la composición química del cladodio de nopal se encuentra principalmente un alto contenido de agua, muy característico de las cactáceas, por otra parte, se tiene que la cantidad de proteína es elevada en cladodios jóvenes (de un mes) en comparación con los viejos (más de un año), que va del 0.94 al 0.48% respectivamente. En cuanto a la cantidad de fibra contenida en los cladodios es menor en cladodios jóvenes y mayor en los viejos.

La cantidad de cenizas presentes en el cladodio va aumentando con la edad y con esta se tiene también un aumento en el contenido de minerales. Mientras que la cantidad de carbohidratos es similar sean estos viejos o jóvenes. Y los cladodios jóvenes presentan mayor cantidad de vitamina C, cuantificada en ácido ascórbico, en comparación con los cladodios viejos. (Guzmán y Chávez, 2007).

Los segmentos frescos del cactus contienen alrededor de un 90% de agua. Los frutos, un 12 % de azúcar y 6.75% de materiales nitrogenadas, además de ácidos orgánicos (alrededor del 0.10%), con un característico colorante entre rojo y

anaranjado, lo que provoca que, al consumirlo, la orina se tiña de ese color (Méndez, 2009).

### **2.3.1.3. Pitahaya (*Hylocereus undatus*)**

La pitahaya es una planta dicotiledónea que pertenece a la familia de las cactáceas y a la subclase *Caryophyllidae* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978). Es una planta perenne de rápido desarrollo y dependiendo de las condiciones en que se encuentre, esta planta, puede presentar diversos hábitos de crecimiento (Ortiz-Hernández, 2000): es decir, normalmente se le considera como epífita sobre la copa de los árboles, pero posteriormente pueden dirigir sus raíces al suelo y convertirse en hemiepífita. También tienen hábitos de crecimiento rupestre al crecer sobre rocas o peñascos (Ortiz-Hernández, 1999).

La pitahaya es nativa de los bosques caducifolios tropicales de México, las Antillas, América Central y norte de América del Sur (Rodríguez, 2000). Desde el punto de vista ecológico, cultural y económico el género *Hylocereus* es considerado como uno de los grupos de cactáceas más importante del continente americano (Ortiz-Hernández, 2000). Las frutas son ricas en antioxidantes, los cuales pueden ayudar a prevenir o retrasar el daño oxidativo de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Ortiz-Hernández *et al.*, 2012).

Esta planta se ha aprovechado desde épocas remotas, a través de la recolección de sus frutos para el consumo, o del uso de tallos o flores para la preparación de remedios caseros (Rodríguez, 1993) Las plantas de pitahayas y las partes que la forman se destinan a diferentes usos: ornamentales, barreras

protectoras, medicinales y alimenticios, que incluso pueden compatibilizarse con su función productiva (Rodríguez, 2000).

Parra, (2015) demostró que los tallos verdes de pitahaya, contenían los siguientes metabolitos: alcaloides, cumarinas, compuestos grasos, catequinas, aminoácidos libres o aminas, azúcares reductores, mucílagos y en las semillas encontró los mismos metabolitos además de saponinas. También menciona la presencia de ácido ascórbico, niacina, riboflavina, tiamina, y algunos elementos como el calcio, fosforo, y hierro.

Por otra parte, Montesinos C. J. A., et al 2015, reportan la presencia de proteína y fibra cruda, así como potasio y zinc, también menciona la extracción de extracto etéreo (sin precisar los compuestos encontrados) en los tallos tiernos de una plantación en el Estado de Morelos, México.

#### **2.3.1.4. Sauce llorón (*Salix babylonica*)**

El género *Salix*, pertenece a la familia de las Salicáceas, incluida en el orden de las Salicales del grupo de las *Amentiflorae*; este se caracteriza por sus flores unisexuales con perianto ausente o reducido. Las *Amentiflorae* pertenecen a la subclase de las *Monochlamydae*, clase de las *Dicotyledonae*, subdivisión *Angiospermae*, división *Phanerogamae* (FAO, 1980). Este género comprende aproximadamente 300 especies entre árboles, arbustos y plantas rastreras (Facciotto *et al.*, 2011). Los sauces presentan un gran interés por la gran cantidad de posibles usos, productos y aplicaciones, siendo de gran utilidad como especie

forestal para la obtención de madera y así como de planta ornamental (Cerrillo, 2011).

La especie *Salix babylonica* es originaria del Lejano oriente, donde su área natural es mal conocida. Fue introducida desde hace más de dos siglos en Europa Occidental y luego en el mundo entero (FAO, 1980). Son árboles de 4-5 m de altura; nativo de México, Centro y Sur América, además de ser usado como ornamental, su corteza contiene salicatos que son la materia prima para la preparación de aspirinas (Pérez-Arbeláez, 1990). Sus ramas son finas y largas, lloronas; hojas lanceoladas o lineares lanceoladas, verde grisáceo en el envés y lampiñas, peciolo corto. Amentos cortos; los ejemplares cultivados son únicamente hembras. Especies de clima meridionales no soportan fuertes heladas de invierno (FAO, 1980).

El contenido de minerales como P, Cu, Fe y Zn en las hojas de sauce depende principalmente de la estación del año en que sean recolectadas, a excepción del Ca el cual se encuentra en la misma cantidad independientemente de la época del año. (Carou E. *et al.*, 2010).

#### **2.3.1.5. Siempreviva (*Sedum praealtum*)**

La familia Crassulaceae son plantas suculentas que comprende entre 25 y 33 géneros con 500 a 1500 especies de amplia distribución mundial en su mayoría por las regiones Cálidas y templadas del Viejo y Nuevo Mundo (Caballero y Jiménez, 1977). En su mayoría son generalmente plantas rupícolas, de zonas

secas, principalmente al sur de Asia Central, Sudáfrica, México y la región del Mediterráneo (Arreguin-Sánchez et al., 1990).

El género *Sedum* L. cuenta con alrededor de 428 especies en el mundo, siendo el más diverso y el de más amplia distribución de la familia Crassuláceae. En México, está representado por unas 110 especies, de las cuales  $\pm 100$  (91%) son endémicas del territorio mexicano. Presenta una gran diversidad de formas vegetativas y florales, por lo que sus límites taxonómicos han sido difíciles de establecer mediante caracteres morfológicos (Jimeno-Sevilla y Albalat-Botana, 2012).

Estudios filogenéticos han demostrado que el género es de origen parafilético (Carrillo-Reyes et al., 2009). Este género está formado por plantas suculentas, la mayoría perennes, algunas anuales o bienales, grabas o a veces pilosas, hojas planas a cilíndricas, enteras o casi así, usualmente alternar rara vez opuestas o verticiladas; inflorescencia comúnmente cimosa, terminal a veces lateral, flores pentámeras, a veces 4, rara vez 3-6-7 partidas, pétalos usualmente separados desde la base o casi así, extendidos a veces erectos; estambres el doble número de pétalos, a veces el mismo número (Cronquist, 1981; Meyrán, 1988).

Por otro lado, la especie *Sedum praealtum* (siempreviva) es un arbusto con frecuencia colgante de 60 cm a 5 m de longitud, con hojas sésiles, aplanadas y espatuladas tienen una base angosta y se alternan en espiral, presentan un color verde lustroso con borde rojizo (Lino et al., 2008). La época de floración ocurre

entre el período de invierno a primavera brotando flores muy pequeñas pentámeras de color amarillo.

Esta planta silvestre crece en suelo pedregoso de lugares de clima templado húmedo principalmente entre los 2400 y los 2700 msnm como Hidalgo, Puebla, Tlaxcala y hasta Guatemala; sin embargo, se adapta y crece en cultivo en climas y suelos diferentes (Flores y Galván, 2008).

La siempreviva se ha utilizada con fines de ornato y en la medicina tradicional por sus propiedades anti-inflamatoria y analgésica, para enfermedades de los ojos, erupciones cutáneas y de regeneración de tejidos, así como anticonceptivo (Flores y Galván, 2008; Silva, 2003). Las flores de *Sedum praealtum* D.C. se usan en medicina tradicional como un agente antiinflamatorio (Beltrán *et al.*, 2013).

### **2.3.2. Metabolitos secundarios**

Es importante conocer la función que tienen los metabolitos secundarios en las plantas, y en estudios recientes se demuestra que la mayoría de las plantas producen compuestos que cumplen diferentes funciones como el de defensa contra predadores y patógenos, o bien son producidos para atraer polinizadores o para atraer organismos que le ayuden a la dispersión de sus semillas, una función más es la alelopatía, que le sirve a la planta para desarrollarse y no tener competencia (Swain 1973, Levin 1976, Cronquist 1977).

Se define como metabolismo al conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. 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, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales.

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones.

A diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominados productos secundarios, productos naturales).

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas. Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales.

La estructura química entre unos y otros a veces es muy parecida. Es el caso del ácido kaurenico y la prolina, metabolitos primarios, mientras que los ácidos abiético y pipecólico, compuestos muy relacionados estructuralmente con ellos, son metabolitos secundarios.

Por otro lado, la distinción entre ambos tipos es difusa en ocasiones si tenemos en cuenta que la biosíntesis de muchos de ellos comparten numerosos

intermediarios que derivan de las mismas rutas metabólicas. Por lo tanto, la diferenciación entre metabolitos primarios y secundarios puede no ser del todo adecuada.

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono. Es importante destacar que también reciben la denominación de productos naturales y tienen un importante y significativo valor medicinal y económico, derivado éste último de su uso en la industria cosmética, alimentaria, farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales, que ya se usaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se utilizan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorantes, etc. Se agrupan en cuatro clases principales.

#### **2.3.2.1. Terpenos**

Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales. Compuestos fenólicos. Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos. Glicósidos. Saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.

Los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40 000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas.

Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis),

ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en la estructura de membranas).

Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C). De esta forma, los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno (C5) que contienen: los terpenos de 10 C contienen dos unidades C5 y se llaman monoterpenos; los de C15 tienen tres unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de C20 tienen cuatro unidades C5 y son los diterpenos. Los triterpenos tienen C30, los tetraterpenos tienen C40 y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isopreno.

Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP. El isopentenil bifosfato y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) son los precursores activados en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas para dar lugar a prenil bifosfatos como geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil difosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y geranilgeranil difosfato (GGPP) precursor de diterpenos.

El grupo de los terpenos, como antes se menciona, incluye hormonas (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas), esteroides (ergosterol, sitosterol, colesterol), derivados de los esteroides (glicósidos

cardiacos), latex y aceites esenciales (proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas). Aunque las citoquininas y las clorofilas no son terpenos, contienen en su estructura una cadena lateral que es un terpeno.

A la vista de esta variedad de compuestos, es evidente que muchos terpenos tienen un importante valor fisiológico y comercial. Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalaricales, antimicrobianas, etc.

Muchas plantas (limón, menta, eucalipto o tomillo) producen mezclas de alcoholes, aldehídos, cetonas y terpenoides denominadas aceites esenciales, responsables de los olores y sabores característicos de estas plantas, algunos de los cuales actúan como repelentes de insectos o insecticidas. Los terpenos que se encuentran en los aceites esenciales son generalmente monoterpenos, como el limoneno y el mentol, principales monoterpenos constituyentes de los aceites de limón y menta, respectivamente.

Por otra parte, la resina de ciertas coníferas contiene monoterpenos que actúan como insecticidas. Es el caso de los metabolitos pineno y piretrina.

Entre los Diterpenoides se encuentran las giberelinas y el fitol, un diterpeno de cadena abierta que forma parte de la estructura de las clorofilas.

Entre los Triterpenos se encuentran esteroides y esterolés derivados del escualeno, una molécula de cadena lineal de 30 C de la que derivan todos los

triterpenos cíclicos. Los esteroides que contienen un grupo alcohol, y es el caso de casi todos los esteroides vegetales, se denominan esteroides. Los más abundantes en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, que sólo difiere del estigmasterol en la ausencia del doble enlace entre C22 y C23.

El esteroide más abundante de animales es el colesterol, presente también en plantas, aunque en trazas, razón por la cual los aceites vegetales se etiquetan como “libres de colesterol”.

La principal función de los esteroides en plantas es formar parte de las membranas y determinar su viscosidad y su estabilidad. Algunos esteroides tienen funciones protectoras frente a insectos como en el caso de la ecdisona aislada del helecho común.

Los limonoides también son triterpenos, las sustancias amargas de los cítricos que actúan como antiherbívoros. Un limonoide de los más poderosos repelentes de insectos es la azadiractina que se usa en la industria alimentaria y en agronomía para el control de plagas.

Entre los triterpenos se encuentran algunos esteroides en forma de glicósidos. Estos glicósidos esteroideos, con importantes funciones en medicina y en la industria (cardenólpidos y saponinas), se consideran más adelante en el apartado de glicósidos.

Los terpenos de mayor tamaño son los tetraterpenos y politerpenos, entre los que se encuentran los carotenoides (tetraterpenos) y los hidrocarburos de alto peso molecular caucho y gutapercha (politerpenos o poliisoprenoides).

### 2.3.2.2. Compuestos Fenólicos

En el contexto del metabolismo, los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario. Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo.

Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides. Muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta-herbívoro.

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: la ruta del ácido xiquímico y la ruta del ácido malónico.

La ruta del ácido malónico es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores. La ruta del ácido xiquímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido xiquímico y, derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina).

La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina. Esta ruta está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales. La fenilalanina

y el triptófano se encuentran entre los aminoácidos esenciales para los animales que se incorporan en la dieta. La tirosina no es esencial en el sentido de que los animales pueden sintetizarla por hidroxilación de fenilalanina.

La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos.

Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL son básicamente adiciones de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. Los ácidos trans-cinámico y p-cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido caféico cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides.

Los ácidos cinámico y cumárico, así como sus derivados, son compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides por contener un anillo de benceno (C6) y una cadena lateral de tres carbonos (C3).

Las cumarinas son una amplia familia de lactonas, más de 1500 identificadas en más de 800 especies de plantas, que actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de germinación. Algunas muestran fototoxicidad frente a insectos (es el caso del psoraleno) tras activarse por luz UV, acción llevada a cabo por bloqueo de la transcripción y de la reparación de DNA, provocando la muerte celular.

La cumarina más simple es la que se encuentra como constituyente en el aceite de bergamota, un aceite esencial que aporta aroma al tabaco de pipa, el té y a otros productos. Las más tóxicas son producidas por hongos, por ejemplo, la aflatoxina producida por *Aspergillus flavus*, quizá el carcinogénico más potente de las toxinas naturales.

Entre los compuestos fenólicos también se encuentran los derivados del ácido benzoico que tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral. Ejemplos de estos derivados son la vainillina y el ácido salicílico (actúa como regulador del crecimiento vegetal, implicado en la resistencia de la planta frente a patógenos)

La lignina es un polímero altamente ramificado de fenilpropanoides. Después de la celulosa, es la sustancia orgánica más abundante en las plantas. Se encuentra covalentemente unida a la celulosa y a otros polisacáridos de la pared celular. Es insoluble en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos lo que hace muy difícil su extracción sin degradarla. Desempeña un papel estructural fundamentalmente, su naturaleza química es la base de su dureza mecánica y de su rigidez que se manifiesta en los tallos lignificados, los troncos de los árboles, imprimiendo su “carácter” a la madera. Se encuentra en la pared celular de varios tejidos de soporte y de transporte, en traqueidas y en los vasos del xilema. Principalmente se deposita en la pared secundaria, fortalece los tallos y tejidos vasculares permitiendo el crecimiento vertical y la conducción de agua y minerales a través del xilema.

Se forma a partir de tres derivados fenilpropanoides: los alcoholes coniferílico, cumarílico y sinapílico, de manera que cada uno de ellos puede formar numerosos enlaces y ramificaciones haciendo que cada lignina pueda ser única. También tiene función protectora dado que su resistencia mecánica evita que las plantas sean alimento para animales y, además, su naturaleza química hace que sea difícil digerirla por los herbívoros.

Entre los compuestos fenólicos también se encuentran los flavonoides. Su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. Se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Entre sus funciones se encuentra la defensa y la pigmentación.

En la ruta de biosíntesis de flavonoides, la primera etapa consiste en la condensación de tres moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-cumaril-CoA. Esta reacción está catalizada por calcona sintasa y da lugar a naringerina calcona, precursor de los flavonoles y antocianinas.

La misma condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación estilbenos implicados en mecanismos de defensa de plantas frente a patógenos. Las antocianinas son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos. Por ello son importantes en la polinización y en la dispersión de semillas. Son glicósidos con un azúcar en posición 3.

Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas. El color de las antocianinas depende del número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B y del pH de las vacuolas en las que se almacenan. Algunos ejemplos son pelargonidina (rojo-naranja), cianidina (rojo púrpura) y delphinidina (azul púrpura).

En las flores también se encuentran flavonas y flavonoles que absorben a longitudes de onda más cortas que las antocianinas por lo que no son visibles para el ojo humano. Sin embargo los insectos que ven en el rango del UV responden a flavonas y flavonoles como señales de atracción.

Los taninos son compuestos fenólicos poliméricos que se unen a proteínas desnaturalizándolas. Existen dos categorías: taninos condensados y taninos hidrolizables.

Los taninos condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianidinas. Los taninos hidrolizables son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente. Generalmente son toxinas debido a su capacidad de unirse a proteínas. También actúan como repelentes alimenticios de muchos animales que evitan, en el caso de los mamíferos, plantas o partes de plantas que contienen altas concentraciones de taninos. Esto ocurre en los frutos inmaduros en los que se concentran los taninos en la piel. Sin embargo, los taninos del vino tinto tienen efecto beneficioso en la

salud humana al bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal que provoca vasoconstricción.

### **2.3.2.3. Glicósidos**

Los glicósidos son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos.

Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos. Las saponinas se encuentran como glicósidos esteroideos, glicósidos esteroideos alcaloides o bien glicósidos triterpenos. Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar, en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas.

Los glicósidos cardiacos o cardenólidos son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una lactona. Se encuentran de forma natural en forma de glicósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina, o su análogo digoxina, aislada de *Digitalis purpurea* y utilizada como medicamento en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva.

Los glicósidos cianogénicos son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismos, pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN). Un ejemplo es la amigdalina que se encuentra en las semillas de almendra, albaricoque, cereza o melocotón.

Los glicósidos cianogénicos normalmente no se degradan cuando la planta está intacta. Tienen un papel protector en algunas especies frente a herbívoros. El cianuro de hidrógeno es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas como la citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial.

Sin embargo, algunos herbívoros llegan a adaptarse a alimentarse de plantas cianogénicas y tolerar más altas dosis de HCN. Los tubérculos de mandioca o yuca, muy ricos en carbohidratos, contienen altos niveles de glicósidos cianogénicos y forman parte de la dieta de muchos países tropicales. Aunque el procesamiento tradicional de estos tubérculos elimina gran parte de los glicósidos cianogénicos, la detoxificación no es completa dando lugar a efectos nocivos en las poblaciones consumidoras.

Los glucosinolatos, también llamados glicósidos del aceite de mostaza, se degradan y desprenden sustancias volátiles responsables del aroma, el olor y el gusto de condimentos como la mostaza y de vegetales como el repollo, brócoli o coliflor (Brassicaceae). La sinigrina es el glucosinolato que se encuentra en las semillas de mostaza negra (*Brassica negra*).

Los glucosinolatos al igual que los glicósidos cianogénicos, están separados espacialmente de las enzimas hidrolíticas que los degradan y actúan también como repelentes de herbívoros.

#### **2.3.2.4. Alkaloides**

Los alcaloides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la mescalina o la colchicina, por ejemplo. Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas.

A los valores normales de pH del citosol y de la vacuola (7,2 y 5-6, respectivamente), el nitrógeno está protonado lo cual confiere el carácter básico o alcalino de estos compuestos en solución.

En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivos o analgésicos.

Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina. El opio es quizá uno de los primeros alcaloides conocidos, el exudado (látex) de la cápsula

inmadura de *Papaver somniferum*. Este exudado contiene una mezcla de más de 20 alcaloides diferentes entre los que se encuentran la morfina y la codeína. Ambos alcaloides pertenecen a un grupo denominado alcaloides isoquinolínicos que sintetizan a partir de la reticulina. La heroína es un alcaloide semisintético formado por acetilación de la morfina. Los alcaloides se clasifican en función de los anillos presentes en la molécula. (Ávalos Pérez, 2009)

### **2.3.3. Técnicas de elaboración de extractos**

Los métodos para la separación de componentes más valiosos como terpenos y ésteres, toman ventaja de la variación de la solubilidad de las fracciones en un solvente en particular, como puede ser alcohol acuoso. El método frío, tiene la desventaja de ser lento y requerir más trabajo; sin embargo, necesita equipo simple y poca energía es requerida para la separación básica. Ya que la solubilidad depende de la temperatura, la temperatura de la extracción debe ser controlada; por otro lado, el proceso caliente tiene la ventaja de ser mucho más rápido, no obstante, requiere de mayores cantidades de energía y equipo más sofisticado para su operación, sobre todo en el control de la temperatura, parámetro determinante para la extracción adecuada de los componentes deseados, debido a que algunos de estos componentes pueden presentar propiedades termo-sensibles.

Existen diferentes formas de extracción de compuestos, y se utilizarán dependiendo del tipo de compuesto a extraer, así como el tipo y órgano vegetal.

#### **2.3.3.1. Maceración**

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada, así como del líquido de extracción.

Existen diferentes técnicas de maceración, una de ellas consiste en triturar la planta y depositarla en un recipiente con agua o alcohol o bien la mezcla de agua (30) con alcohol (70%), la relación de agua planta dependerá de la cantidad de planta a utilizar, es decir, se llenará el recipiente de manera que cubra en su totalidad a la planta. Posteriormente se deja de 1 a 14 días. Este procedimiento se utiliza con la finalidad de evitar cambios en los principios activos sensibles al calor (Mendoza, 2010).

## **2.4. OBJETIVO**

Encontrar la mejor respuesta de diferentes extractos vegetales que funcionen como enraizadores naturales para la propagación de estacas de higuera.

## **2.5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.5.1. Recolección del material vegetal para la preparación de enraizadores naturales**

La colecta del material vegetal se realizó el día 11 de marzo del 2016, se colectaron hojas y tallos de las siguientes especies: Sauce (*Salix babylonica*)

(principalmente las partes apicales de las ramas) se colectó en las afueras de la universidad Autónoma Chapingo por la entrada de la Úrsulo Galván. Millonaria (*Portulacaria afra*), pitahaya (*Hylocereus undatus*), se colectaron del invernadero de producción de higos de la universidad autónoma Chapingo. Siempre viva (*Sedum praealtum*) se colectó del huerto de plantas medicinales del campo san Martín de la universidad autónoma Chapingo.

### **2.5.2. Desinfección del material vegetal**

En cuanto a la desinfección de material se probaron diversas alternativas pues el experimento se estableció en cuatro ocasiones debido a que no se obtenían resultados favorables debido a la contaminación de las estacas por hongos, es por eso que se buscaron diferentes alternativas a la desinfección del material utilizado en el establecimiento del experimento como a continuación se describe:

En el último intento de la implementación del experimento se optó por no desinfectar el material vegetal utilizado, ni las plantas para los extractos ni las estacas de higuera. De esto se tiene lo siguiente:

El sauce llorón (*salix babylonica*) se recolectó de un árbol ubicado fuera de la Universidad Autónoma Chapingo, se recolectó sólo la parte apical de las ramas y hojas. El árbol crece de manera natural sin intervención del hombre.

La siempre viva (*Sedum praealtum*) se recolectó de Farmacia viviente del Campo San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo. Se recolectaron solo las hojas y las partes apicales. La planta crece la mayor parte de su ciclo de forma

natural, algunas veces recibe mantenimiento del hombre en su entorno, pero es mínimo.

El nopal se recolectó de la Nopalera de la Universidad Autónoma Chapingo, se seleccionó un nopal tirado con algunas raíces.

La millonaria (*Portulacaria afra*) y la pitahaya (*Hylocereus undatus*) se recolectaron de las plantas establecidas en el invernadero de higos de la Universidad Autónoma Chapingo. Estas plantas tienen un manejo de fertilización mediante solución nutritiva suministrada por riego localizado.

### **2.5.3. Maceración de las plantas utilizadas como enraizadores naturales**

Una vez recolectadas las plantas se dejaron reposar por la noche (8 horas aproximadamente), posteriormente se procedió a realizar el macerado agregándole 250 ml de agua pura. Una vez teniendo la maceración mezclada con agua se procedió a colocarlo en frascos de 250 ml para su traslado al invernadero. Manteniéndolos en un lugar fresco y seco asegurando que no pasara mucho tiempo de la maceración a su utilización. Esta maceración se realizó el día 21 de marzo iniciando a las 6 am y terminado a las 10 am.

### **2.5.4. Obtención de las estacas de higuera**

A las plantas madre se les dio un tratamiento de defoliación una semana antes del corte de las estacas. Esto con la finalidad de inducir a las yemas a su brotación.

Al término de la semana se tuvieron ramas con yemas hinchadas, entonces se cortaron para la obtención de las estacas, se cortaron estacas con dos nudos. Los cortes de las estacas fueron de acuerdo a los tiempos de los tratamientos, es decir no se cortaron todas en un solo tiempo, esto con la finalidad de evitar la deshidratación de las estacas.

#### **2.5.5. Preparación de la cama**

La preparación del espacio para el establecimiento del experimento se realizó un día antes, es decir, el 20 de marzo por la mañana, el espacio que se utilizó fue la parte trasera del invernadero de Higos de la Universidad Autónoma Chapingo, el cual fue lavado con solución de cloro al 30% se lavó el piso y los plásticos laterales y el superior, también se lavó la mesita de madera que sirvió como base para la estructura de madera que funcionó como cama, se lavaron los plásticos a utilizar para el cierre hermético de la cama. Todo esto se dejó reposar durante la tarde y noche.

#### **2.5.6. Establecimiento del experimento**

El experimento se estableció el día 21 de marzo 2016, se procedió de la siguiente manera:

De acuerdo a las experiencias anteriores sobre los tiempos empleados como tratamientos se determinó reducir el tiempo de sumergir las estacas en la mezcla, con esto quedaron los siguientes tiempos:

Tiempo 1. Solo pasar las estacas por el extracto y sembrarlas inmediatamente.

Tiempo 2. La base de las estacas estuvo durante 30 minutos en el extracto.

Tiempo 3. La base de las estacas estuvo durante 1 hora en el extracto.

Tiempo 4. La base de las estacas estuvo durante 2 horas en el extracto.

Tiempo 5. La base de las estacas estuvo durante 3 horas en el extracto.

Tiempo 6. La base de las estacas estuvo durante 4 horas en el extracto.

Este mismo día se desinfestó el sustrato (Arena sílica) a las 10:30 am utilizando 20 litros de arena sílica los cuales fueron puestos a calentar con dos litros de agua hasta llevar al agua a punto de ebullición, tapándola para no dejar escapar el vapor, manteniéndola por 20 minutos al fuego hirviendo. Al pasar los 20 minutos se procedió a extenderla en la cámara de enraizamiento para que se enfriara un poco.

Después de hervir la arena se procedió a cortar las estacas para los primeros tratamientos. En este caso fueron 5 estacas por tratamiento, dando un total de 30 estacas por tiempo, se fueron cortando las estacas minutos antes de la hora de inicio del tratamiento. En el cuadro se muestra como quedaron los tratamientos

Hora de inicio	Hora de salida	Sauce	Siempre viva	Pitahaya	Millonaria	Nopal	Radix	Testigo
13:00	17:00	T31	T32	T33	T34	T35	T36	T37
14:00	17:00	T25	T26	T27	T28	T29	T30	T38

15:00	17:00	T19	T20	T21	T22	T23	T24	T39
16:00	17:00	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T40
16:30	17:00	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T41
17:00	17:00	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T42

Todas las estacas ya habían permanecido el tiempo requerido por cada tratamiento, se procedió a sembrar utilizando un diseño experimental completamente al azar, con cinco repeticiones, tomando una estaca como unidad experimental. Terminando de sembrar se procedió a sellar la cámara herméticamente, con la ayuda de una cinta adhesiva. Teniendo cuidado de que no hubiera ninguna fuga de aire para evitar la deshidratación de las estacas. Después de cerrar la cámara herméticamente se procedió a colocarle una doble capa de plástico por la parte exterior para guardar el calor y asegura que la temperatura y la humedad se mantuvieran constante durante el día y la noche

El experimento se dejó por 21 días, pasados estos días, se procedió a realizar la evaluación.

### 2.5.7. Variables respuesta

Las variables a evaluar fueron:

**Número de raíces.** Se contó el número de raíces emergidas 21 días después de su establecimiento.

**Largo de raíz.** Se midió la longitud de 10 raíces (cm).

**Número de brotes.** Se contó el número de brotes emergidos durante el periodo de enraizamiento de las estacas (21 días).

**Largo de brote.** Se midió el largo del brote desde la parte basal hasta la parte apical de dicho brote.

**Numero de hojas por brote.** Se contabilizó el número de hojas visibles de cada brote.

**Largo de hoja.** Se midió el largo de las hojas más sobresalientes de los botes, desde el peciolo hasta el ápice de la lámina.

#### **2.5.8. Diseño experimental.**

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones y una estaca como unidad experimental.

### **2.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este trabajo experimental no se obtuvieron resultados, por lo que sólo se muestran las imágenes como evidencia fotográfica del trabajo y una breve descripción.

En la figura 1. Se muestra el grupo de tratamientos en una sola cámara de enraizamiento, claramente se observa que en algunos tratamientos se afectó la parte aérea, es decir las hojas. Así mismo se observa que en algunos tratamientos la parte aérea no se vio afectada, es decir, se desarrolló sin ningún inconveniente, se muestran las hojas de una coloración aceptada.



Figura 1. Experimento al abrir la cámara de enraizamiento después de 21 días.

En la figura 2. Observamos el tratamiento 0, que consistió en sumergir la estaca y sembrarla inmediatamente, podemos ver claramente que el 100% de las estacas que fueron tratadas con Radix 3000 ® [f] emitieron raíces, así como también el 60% de las estacas que fueron el tratamiento testigo[g] (no se aplicó ningún extracto) emitieron de dos a 4 raíces, en ambos tratamientos la parte aérea vegetativa se conservó, mientras que el tratamiento con extracto acuoso de siempre viva [d] solo el 20% de las estacas emitió dos raíces, y se conservó el 80% de la parte aérea vegetativa.

Así mismo también se observa que el tratamiento con extracto acuoso de sauce [b)] mantuvo la parte aérea vegetativa, no mostró desarrollo, pero tampoco se pudrieron. Pero en la emisión de raíces no se observó ningún cambio, las estacas no mostraron hinchazón, ni pudrición. Algo semejante se observó en las estacas tratadas con extracto acuoso de pitahaya [e)].

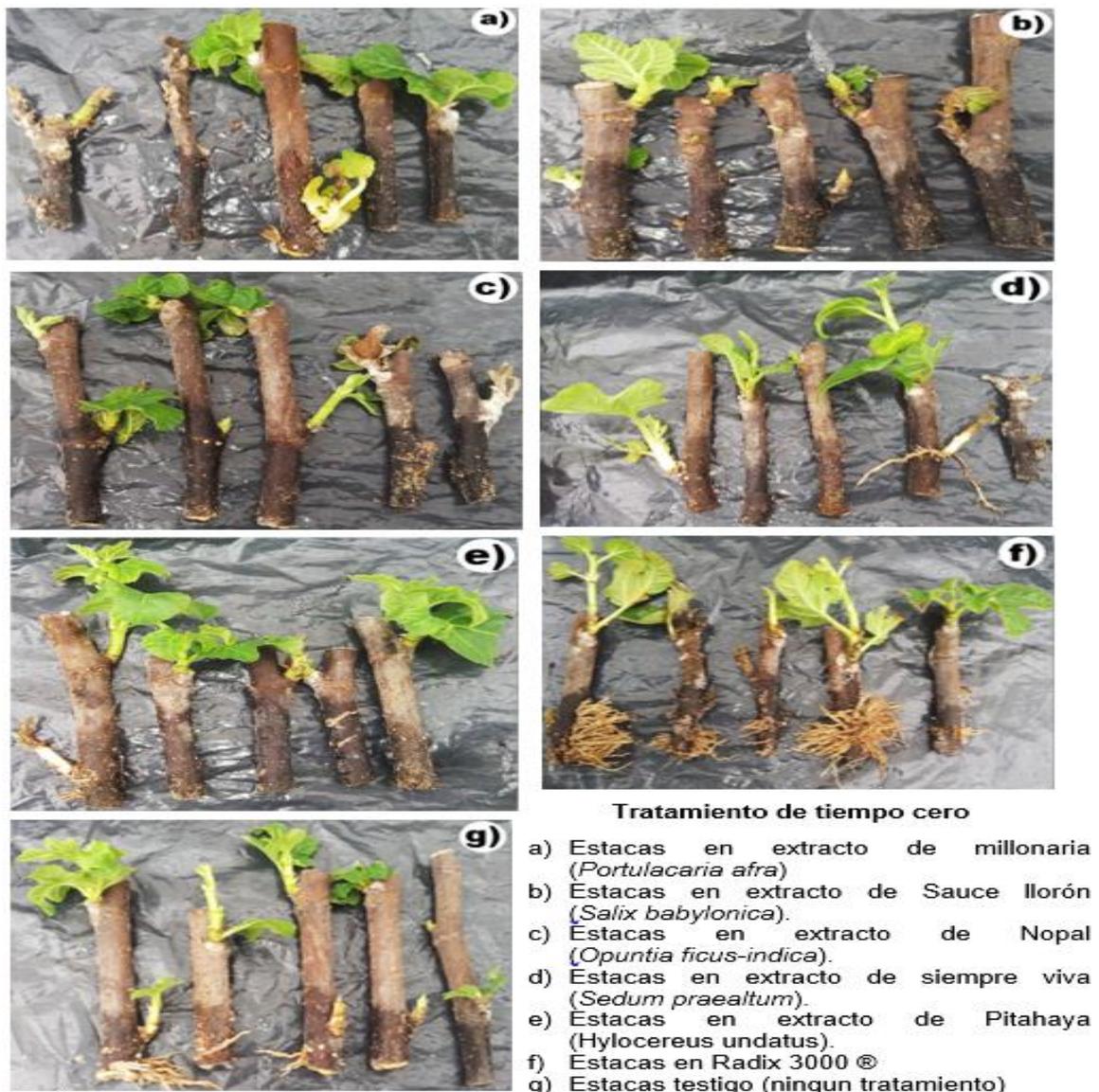


Figura 2. Tratamiento de tiempo cero en los cinco extractos vegetales, el Radix 3000 ® y el testigo.

Mientras que los tratamientos en donde las estacas fueron tratadas con extracto de nopal y millonaria [c) y a) respectivamente] se observó que presentaron pudrición tanto en la base de la estaca como en la parte aérea vegetativa.

En la figura 3. Se observa que en ninguno de los tratamientos en donde se remojaron las estacas por más de 30 minutos en extracto acuoso de sauce llorón, mostro un resultado favorable, sino todo lo contrario, solo hubo pudrición de la base de la estaca y deshidratación de la parte aérea vegetativa, a continuación, describiremos lo observado en cada tratamiento.

Remojo por dos horas a), se observa que solo en una de las cinco estacas establecidas el brote vegetativo se mantuvo, pero no se desarrolló, mientras que en las otras cuatro se pudrieron, en cuanto a la emisión de raíces no se presentó ninguna muestra de brotación, así como también se observa una ligera pudrición en la base de las estacas.

Remojo por 30 minutos b), en este tratamiento el 100 % de las estacas se pudrieron en la parte basal, y se deshidrataron los brotes vegetativos aéreos. Y no se percibieron señas de la emisión de alguna raíz.

Remojo por una hora c), se observó la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos, así como también la pudrición de la base de las estacas, y ninguna muestra de emisión de raíces.

Remojo por tres horas d), en este tratamiento se observó una leve deshidratación de los brotes vegetativos aéreos, por lo que el desarrollo de las hojas

no se presentó. En cuanto a la parte basal de las estacas, solo una de las cinco establecidas presenta una ligera pudrición, y las restantes se ven sanas.

Remojo por cuatro horas e), en este tratamiento se observó la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos y también la pudrición de la parte basal de las estacas, por lo tanto, no hubo muestras de emisión de raíces en ninguna de las estacas.

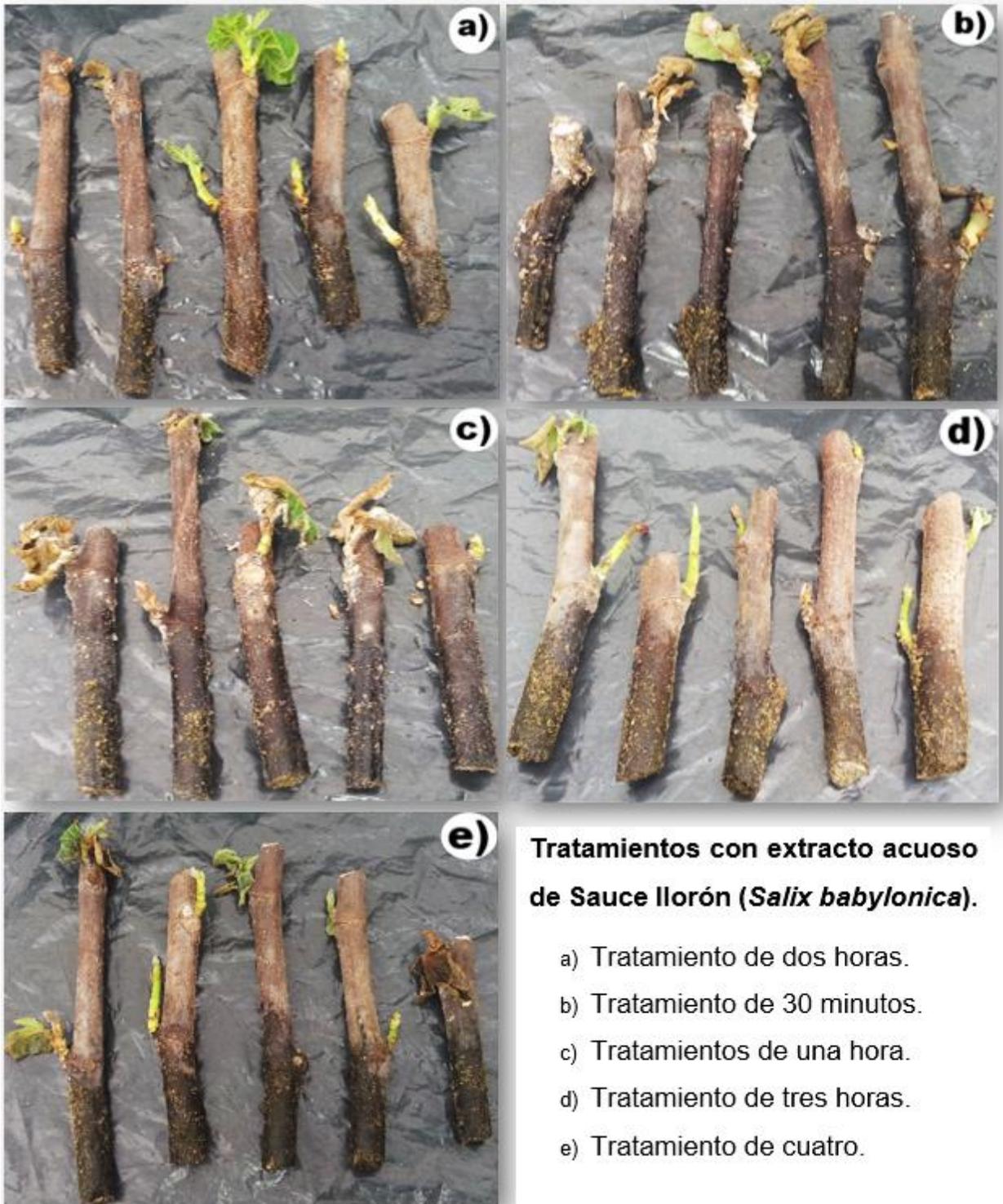


Figura 3. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Sauce llorón (*Salix babylonica*).

En la figura 4. Se observa los resultados de los diferentes tiempos de remojo de estacas de higuera en extracto acuoso de millonaria. A continuación, se describe lo observado en cada uno de los diferentes tratamientos.

Remojo por cuatro horas a), claramente se observa que las cinco estacas establecidas presentan pudrición en la parte basal dando como resultado el desprendimiento de la epidermis, por lo que no hubo emisión de raíces, también se observa la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos, sólo una de las cinco estacas establecidas mantuvo sus brotes, pero estos se vieron afectados por lo que sus hojas se desarrollaron raquíticamente.

Remojo por dos horas b), en este tratamiento se observó que tres de las estacas establecidas se pudrió la parte basal, y las dos restantes se mantuvieron sanas, pero en ninguna de las cinco hubo muestra de emisión de raíces, mientras que en la parte aérea sólo una estaca mostro sus brotes deshidratados, las otras cuatro estacas mantuvieron sus brotes vegetativos aéreos y desarrollaron las hojas, pero estas se vieron afectadas, pues estas hojas se mostraron un poco pequeñas y deformes (enroscadas).

Remojo por tres horas c), en este tratamiento se mantuvieron los brotes vegetativos aéreos, solo que no se desarrollaron favorablemente, es decir las hojas quedaron muy pequeñas y con muestra de una ligera deshidratación, mientras que en la parte basal de la estaca se observa que se reventaron las lenticelas de la epidermis, y solo hubo muy poca pudrición.

Remojo durante una hora d), en este tratamiento todas las estacas sufrieron pudrición basal, así como también se deshidrataron todos los brotes vegetativos aéreos. No hubo ninguna muestra de emisión de raíces.

Remojo durante 30 minutos e), en este tratamiento sólo una está de las cinco establecidas presento dos raíces, cuatro de las cinco estacas se observaron sanas y sólo una mostró pudrición en la parte basal, mientras que en la parte aérea todos los brotes vegetativos se deshidrataron.



Figura 4. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Millonaria (*Portulacaria afra*).

En la figura 5. Se observa los cuatro tratamientos de los diferentes tiempos de remojo de las estacas en extracto acuoso de nopal. Se observó que en todos los tratamientos hubo pudrición de la parte basal de la estaca, así como también en todos los tratamientos se observó la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos. Y de esto solo en el tratamiento de una hora de remojo una de las cinco estacas establecidas emitió una sola raíz.



Figura 5. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Nopal (*Opuntia* spp.).

En la figura 6. Se muestran las imágenes de los resultados de los tratamientos de remojo de estacas de higuera en extracto acuoso de pitahaya durante diferentes tiempos. A continuación, se describen cada uno de ellos.

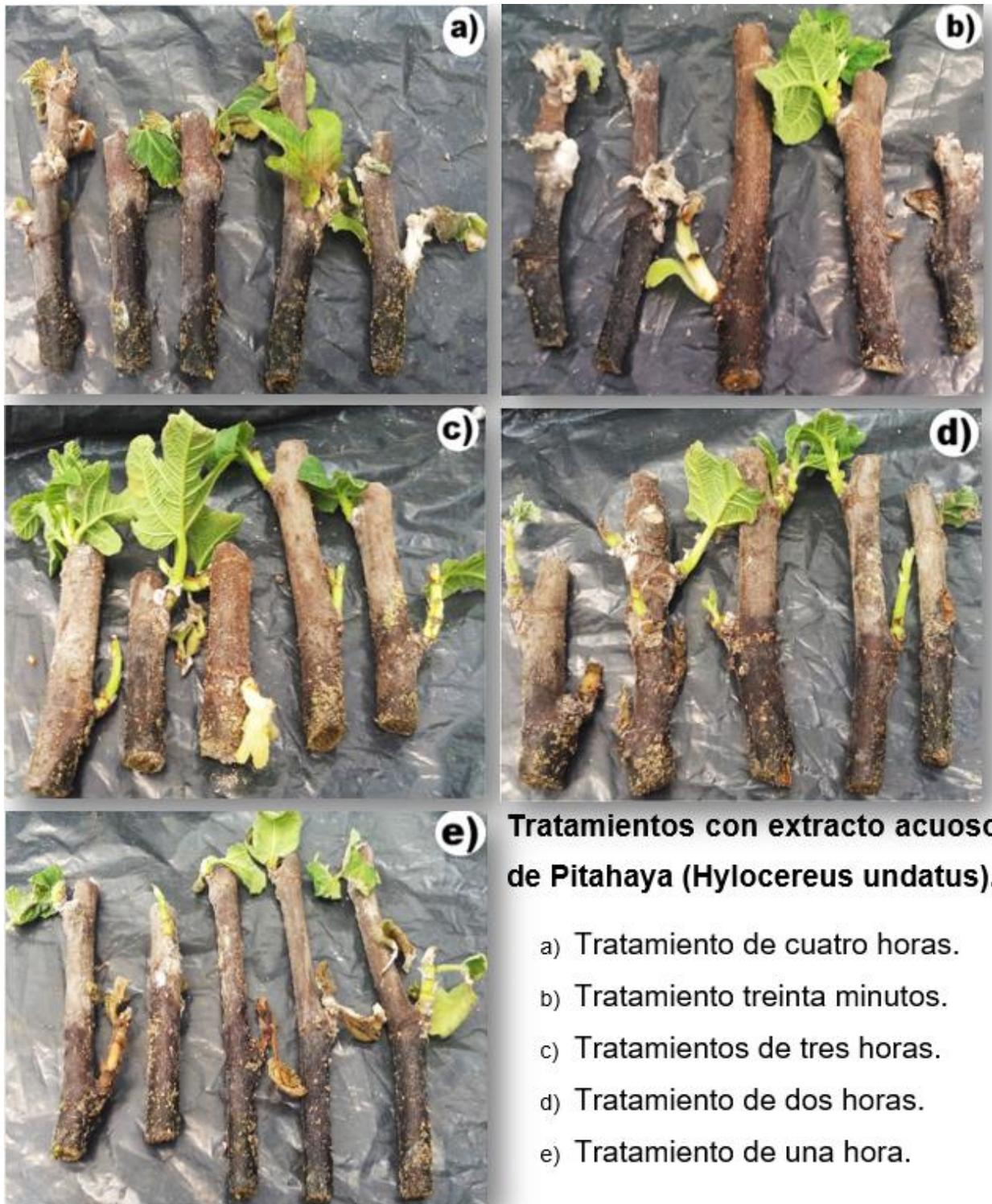
Remojo por cuatro horas a), se observó que en solo una de las estacas establecidas se mantuvo el brote vegetativo aéreo y en las demás estacas dicho brote se deshidrató, también se observó una elevada pudrición de la parte basal de las estacas y ninguna muestra de la emisión de raíces.

Remojo durante treinta minutos b), en este tratamiento se mantuvieron sanas dos de las cinco estacas establecidas, es decir, mantuvieron su brote vegetativo aéreo y no presentaron signos de pudrición de la parte basal de la estaca. Y las otras tres estacas establecidas mostraron una pudrición de la parte basal, así como de los brotes vegetativos aéreos.

Remojo durante tres horas c), en este tratamiento las estacas se mantuvieron saludables, el crecimiento de las hojas fue bueno con una coloración adecuada, pero ninguna mostró la emisión de raíces.

Remojo durante dos horas d), este tratamiento afectó a la parte basal de las estacas causando la pudrición de las mismas, y en la parte vegetativa aérea se mostró una deshidratación de dos de las cinco estacas establecidas, mientras que las otras tres estacas desarrollaron las hojas, pero raquíticamente.

Remojo durante una hora e), en este tratamiento la estaca se vio afectada totalmente pues se deshidrató la parte vegetativa aérea y se pudrió la parte basal de las estacas por lo que no hubo emisión de raíces.



**Tratamientos con extracto acuoso de Pitahaya (*Hylocereus undatus*).**

Figura 6. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Pitahaya (*Hylocereus undatus*).

En la figura 7. Se observan los diferentes tratamientos de estacas de higuera remojadas en extracto acuoso de siempre viva.

En todos los tratamientos las estacas presentaron pudrición en la parte basal, así como también se presentó la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos. Y solo en el tratamiento donde se remojaron las estacas por treinta minutos, sólo una estaca emitió cuatro raíces de al menos dos mm de longitud.

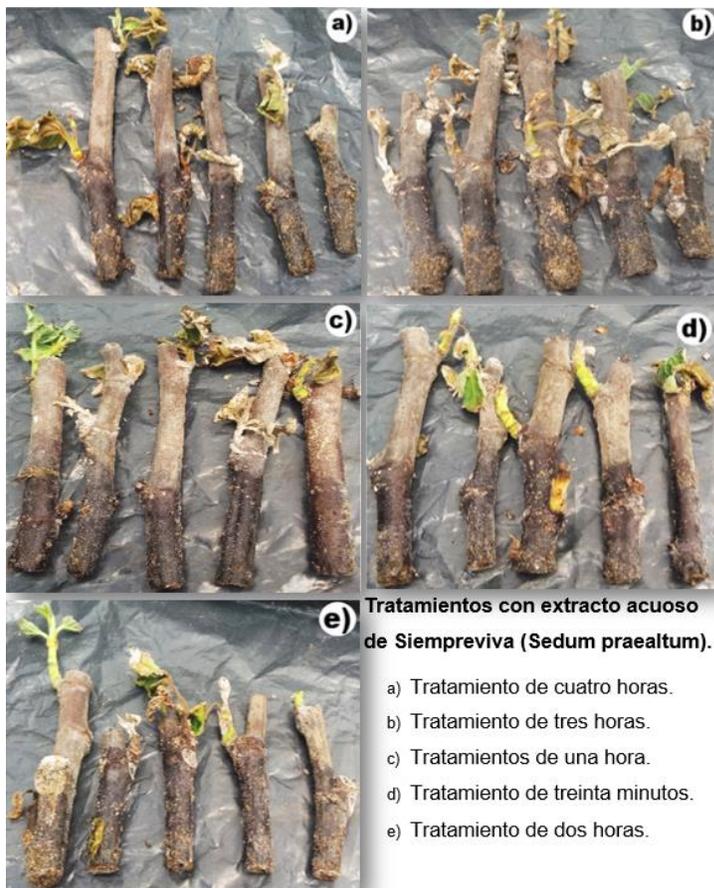


Figura 7. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en extracto acuoso de Siempreviva (*Sedum praealtum*).

En la figura 8. Se observan los tratamientos en diferentes tiempos de remojo de las estacas de higuera en Radix 3000 ® a continuación se describe lo sucedido en cada uno de los tiempos de remojo.

Remojo de cuatro horas a), en este tratamiento se inhibió el desarrollo de la parte vegetativa aérea, se observaron las hojas deshidratadas, en la parte basal de la estaca se observó un hinchamiento, provocado por la división celular ocurrida por el excesivo tiempo de remojo.

Remojo durante treinta minutos b), se observó la deshidratación de los brotes vegetativos aéreos, mientras que también se observó un ligero hinchamiento de la parte basal de las estacas, lenticelas reventadas y pudrición.

Remojo por una hora c), dos horas d) y tres horas e), en los tres casos se observó la deshidratación de la brotación vegetativa aérea y la pudrición de la parte basal de las estacas, y no hubo muestra de emisión de raíces, en algunas de las estacas se observó el hinchamiento de la parte basal.

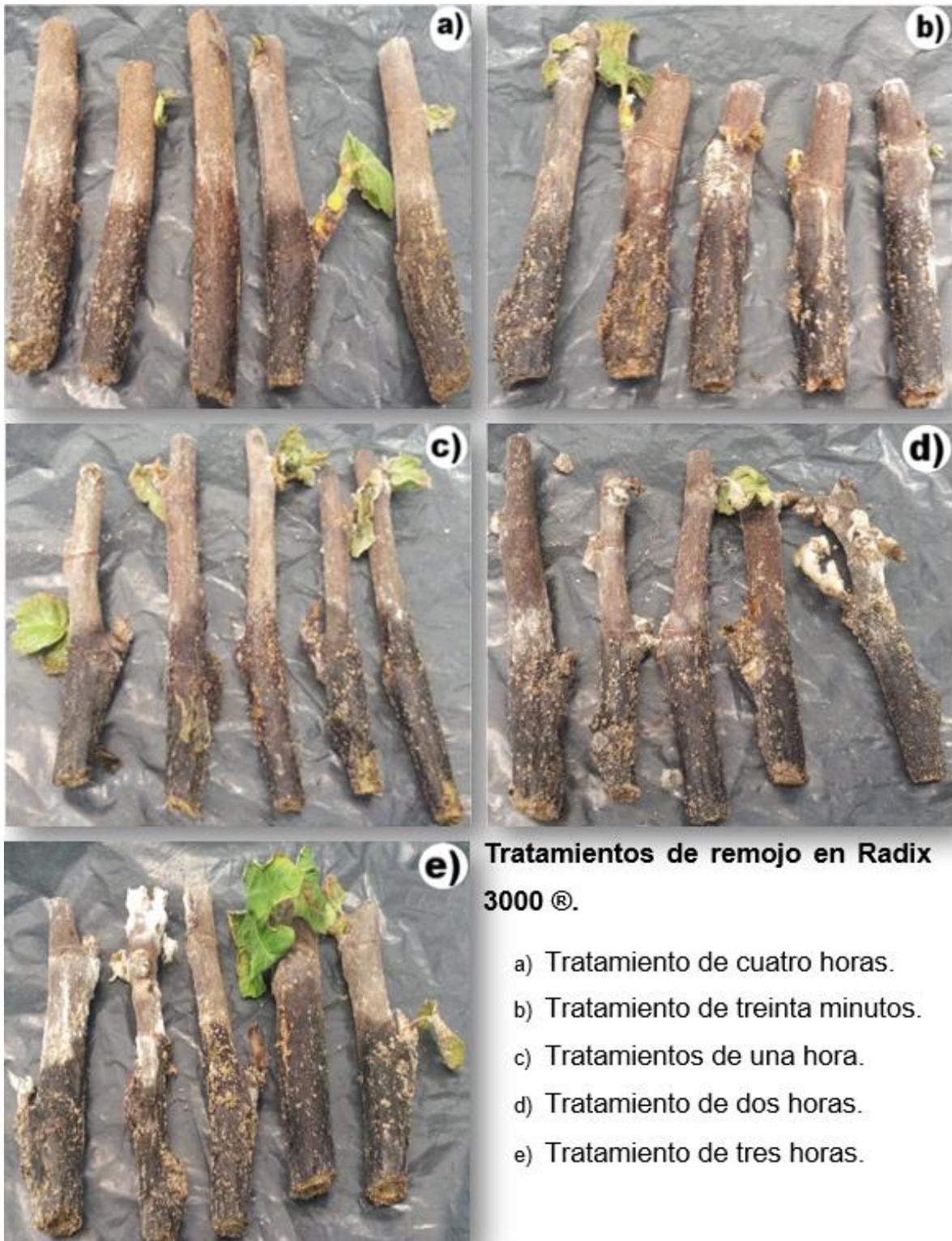


Figura 8. Estacas en cinco tratamientos de tiempo de remojo en Radix 3000 ®.

## 2.7. DISCUSION

De acuerdo a la revisión de literatura, en tres de las plantas estudiadas (Nopal, Pitahaya, y siempre viva), se encuentra presente un ácido en común, el ácido ascórbico (Guzmán y Chávez, 2007; Parra 2015), el cual cumple una función muy importante en las plantas ya que actúa como reductor de muchos radicales libres, minimizando así los daños causados por el estrés oxidativo, (Mora *et al.*, 2011; RODAS, 2017)

Una función similar cumple el ácido salicílico, presente en el sauce llorón (Pérez, 1990 y Carou, *et al.* 2010), el cual es clasificado como un compuesto fenólico que actúa como un regulador del crecimiento, que interviene en la resistencia de la planta a condiciones de estrés (Ávalos Pérez, 2009).

Con lo anterior se tiene que en ninguno de los casos de estudio el extracto acuoso de las plantas cumpliría con la función de enraizador, pero si podría intervenir de alguna manera en evitar la oxidación de la estaca, y esto se observa claramente en el tratamiento donde el tiempo de remojo fue cero, es decir donde la estaca solo se impregno del extracto acuoso y se sembró, pues en la mayoría el desarrollo de la parte vegetativa aérea no se vio afectada, y para el caso del Tratamiento con pitahaya al menos una de las cinco estacas emitió unas cinco raíces de 2 mm de longitud.

Mientras que en los demás tratamientos en donde el tiempo de remojo fue mayor al tratamiento cero, todas las estacas presentaron algún inconveniente para su propagación, en algunos casos las se vio afectada la parte basal de las estacas,

es decir, hubo pudrición, y en otros casos hubo pudrición en la parte aérea vegetativa, y en otros casos más se pudrieron ambas partes.

El único tratamiento que resaltó de los demás fue el tratamiento donde las estacas fueron tratadas con extracto acuoso de pitahaya y se remojaron por tres horas, sólo en este tratamiento no hubo pudrición de la parte basal de las estacas y la parte aérea vegetativa se desarrolló de forma normal.

En los casos en donde las estacas presentaron pudrición cuando el remojo fue por más de 30 minutos seguramente se debió a que en algunas de las plantas se encuentran presentes compuestos como saponinas, como es el caso de la pitahaya, o mucilagos como en el nopal (Parra, 2015; Guzmán y Chávez, 2007), los cuales son compuestos muy densos que permiten la retención de líquidos, lo que probablemente sucedió en este estudio.

## **2.8. CONCLUSIONES**

Las estacas de higuera, puede ser remojadas en un extracto acuoso de pitahaya a una concentración de 100 g en litro de agua durante tres horas, y esto ayudará a evitar el estrés oxidativo, lo que permite que las estacas desarrollen la parte aérea vegetativa y probablemente en más de 21 días las estacas promuevan la emisión de raíces.

Para evitar el estrés oxidativo de las de estacas de higuera durante el proceso de enraizamiento, se puede utilizar el extracto acuoso de alguna de las siguientes plantas: Nopal, Pitahaya, Siempre viva, Millonaria o Sauce llorón, para impregnar las estacas y sembrarlas inmediatamente.

## 2.9. LITERATURA CITADA

- Arreguin-Sánchez M., R. Palacios-Chávez y D. Quiroz-García. 1990. Morfología de los granos de polen de los géneros *Echeveria*, *Sedum* y *Villadia* (Crassulaceae) del Valle de México. *Cactaceas y Suculentas Mexicanas*. 35 (3): 51-61.
- Ávalos G. A., Pérez-U. C. E., 2009. Metabolismo secundario de plantas, *Reduca* (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): pp. 119-145.
- Bautista C. R. 1982. Los agrosistemas nopaleros del Valle de México. Tesis, Chapingo, México, pp. 10.
- Beltrán-Orozco M., J. Ocampo, F. Dáz and R. Silva. 2013. Chemical composition and antioxidant ability of the crude extract of *Sedum praealtum* flowers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 25 (10): 778-784.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1978. Las cactáceas de México. UNAM-México, D.F. Vol. I. 743 pp.
- Caballeho A. y M. Jimenez. 1977. Contribución al estudio anatómico foliar de las crasuláceas canarias. *Vieraea*, 2(7): 115-132.
- Chiqui Q. R. I., Verdugo O. D. C., 2014, Determinación de la eficiencia de enraizadores naturales y sintéticos sobre estacas de la parte apical y media de moro (*Rubus glaucus* B.), en Sinicay Cuenca. Tesis, Universidad de Cuenca, Cuenca – Ecuador. Pp. 49

- E. Carou\*, E. De Loof\*, E. Casaubón\*\*, A. González\*\* y M. E. Dallorso. 2010, Composición mineral de hojas de álamos y sauces de interés nutricional para el ganado en sistemas silvopastoriles del Delta del Paraná, República Argentina N. *Research for Rural Development*. 22:13.
- Flores-Morales V. y M. Galvan-Valencia. 2008. Siempre viva: un espermicida natural y avances de su caracterización fitoquímica. *Revista Investigación Científica*. 4 (2): 1-9.
- Flores-Valdez C. 2003. Importancia del nopal. En: Flores-Valdez (ed.) *Nopalitos y tunas, producción, comercialización, postcosecha e industrialización*. Universidad Autónoma Chapingo. México, pp. 1-18.
- Inglese P. 1999. Plantación y manejo del huerto. En: Barbera G., P. Inglese y E. Pimienta (eds.) *Agroecología, cultivo y usos del nopal*. FAO. Roma, pp. 82-96.
- Jimeno-Sevilla H. y A. Albalat-Botana. 2012. *Sedum perezdelarosae* (Crassulaceae) una especie nueva para el estado de Puebla, México. *Brittonia*, 64(4): 337–342.
- Lino P., C. Voll, L. Sichmann, J. Saavedra, C. dos Santos, K. Minami. 2008. PRODUÇÃO DE MUDAS DE BALSAMO (SEDUM DENDROIDEUM SUBSP. PRAEALTUM (DC.) R.T. CLAUSEN) \*. *Horticultura Brasileira* 26: S4514-S4517.

Mendoza C. G. y Lugo P. R., 2010, Farmacia Viviente, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, Estado de México. pp. 183.

Meyrán J. 1988. La clasificación genérica de las crasuláceas mexicanas. *Cactus y Suculentas Mexicanas*. 33 (4): 79-88.

Montesinos C. J. A. Rodriguez L. L., Ortiz P. R., Fonseca F. M. A., Ruiz H. G. y Guevara H. F., Revision Bibliografica, Pitahaya (*Hylocereus* spp.), Un Recurso Fitogenético Con Historia Y Futuro Para El Trópico Seco Mexicano. *Cultivos Tropicales*, 2015, vol. 36, no. especial, pp. 67-76.

Ortiz H. Y. 1999. Pitahaya: un nuevo cultivo para México. Ed. Limusa-Grupo Noriega Editores. México D. F. 111 pp.

Ortiz H. Y. 2000. Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.). IPN-SIBEJ-CONACYT-FMCN. Oaxaca, México. 124 pp.

Ortiz H. Y., M. Livera, J. Carrillo, A. Valencia-Botín and R. Castillo. 2012. Agronomical, physiological, and cultural contribution of pitahaya (*Hylocereus* spp.) in Mexico. *Israel Journal of Plant Sciences*. 60: 359-370.

Parra J. J. P. 2015. Bondades de la pitahaya (*Hylocereus triangularis*) y su principio activo (ácido linoleico, pectina) para la constipación aguda en adolescentes del “Colegio Paramilitar Gral. George Smith Patton” de Guayaquil, 2014. Tesis. Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Químicas carrera en Química y Farmacia. pp. 29 – 37.

Pimienta E. 1900. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.

Repositorio de Objetos de Aprendizaje de la Universidad de Sevilla, Estrés por radiación: mecanismos de defensa de las plantas. Universidad de Sevilla  
Consultado 03-07-2017. [https://rodas5.us.es/file/6dd7729c-aca-643c-5fd7-3606ff7fa6ca/1/estres\\_radiacion\\_apuntes\\_SCORM.zip/page\\_24.htm](https://rodas5.us.es/file/6dd7729c-aca-643c-5fd7-3606ff7fa6ca/1/estres_radiacion_apuntes_SCORM.zip/page_24.htm)

Rodríguez G. H. y Hechevarría S. I., 2004, Efectos estimulantes del crecimiento de extracto acuoso de plantas medicinales y gel de *Aloe vera* (L) N. L. Burm., Rev. Cubana Plant Med. V.9. N. 2, Ciudad de la Habana.

Rodríguez, A. 2000. Pitahayas. Estado mundial de su cultivo y comercialización. Maxcanú, Yucatán, Fundación Yucatán Produce AC y Universidad Autónoma Chapingo pp.1-22.

Scheinvar L. 1999. Taxonomía de las Opuntias utilizadas. En: Barbera G., P. Inglese y E. Pimienta (eds.) Agroecológica, cultivo y usos del nopal. FAO. Roma, pp. 21-28.

Silva-Torres R., H. Montellano-Rosales, D. Ramos-Zamora, M. Castro-Mussot, C. García-Rojas. 2013. Spermicidal activity of the crude ethanol extract of *Sedum praealtum* in mice. Journal of Ethnopharmacology 85: 15–17.

### **CAPITULO III: EVALUACIÓN DE TRES FUNGISTÁTICOS VEGETALES EN TRES SUSTRATOS PARA LA PROPAGACIÓN POR ESTACAS DE HIGUERA (*Ficus carica* L.).**

#### **3.1. RESUMEN**

El creciente avance en la tecnología para la producción intensiva de frutales ha favorecido los sistemas de reproducción intensiva, como el caso de la higuera, que en la actualidad demanda cantidades altas de plántula para el establecimiento de sistemas de producción intensiva. Los principales problemas para su reproducción vegetativa es el ataque de diferentes especies de hongos como, *Phytophthora*, (hongos que afectan raíz) por la succulencia de los tejidos de la estaca, en donde difícilmente se logra el 50% de eficiencia en el enraizamiento de plántulas aptas para su establecimiento, por lo que es necesario generar un método que nos permita obtener al menos el 80% de la producción en menos de 2 meses. El experimento se estableció en una cámara construida con plástico y con sustratos húmedos y herméticamente sellada. Se evaluó el efecto fungistático de *Schinus molle* (pirul), *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Rosmarinus officinalis* (Romero) en tres diferentes sustratos (arena sílica, arena de tezontle rojo y peat moss) en el enraizamiento de estacas de *Ficus carica* L., con los siguientes tratamientos: T1. Arena de tezontle con pirúl, T2. Arena de tezontle con tomillo, T3. Arena de tezontle con romero, T4. Arena de tezontle sin fungistático (testigo), T5. Arena sílica con pirul, T6. Arena sílica con tomillo, T7. Arena sílica con romero, T8. Arena sílica sin fungistático (Testigo), T9. Peat moss con pirúl, T10. Peat moss con tomillo, T11 peat moss con romero, T12. Peat moss sin fungistático (testigo). Se utilizó un diseño

experimental con dos factores completamente al azar con 5 repeticiones para cada tratamiento, con una estaca como unidad experimental. El mejor resultado se obtuvo con el extracto de pirúl en arena sílica en 21 días de enraizamiento.

### **3.2. ABSTRACT**

The increasing advancement in technology in the intensive production of fruit has led an intensive system of production, as the case of the fig, which now demand high amounts of seedling for the establishment of intensive production systems. The main problems for vegetative reproduction is the attack of different species of fungi as *Pythium* (root fungi afectn) by the succulence of the tissues of the stake, where hardly 50% efficiency is achieved in the formation of seedlings suitable for their establishment, so it is necessary to establish a method of producing seedlings that allows us to get at least 80% of production in less than two months. The experiment was set in a chamber built with plastic and hermetically sealed damp substrates. The fungicidal effect of *Schinus molle* (pepper tree), *Thymus vulgaris* (thyme), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) in three different substrates (silica sand, red sand and volcanic rock Peet moss) in the rooting of *Ficus carica* L. evaluated, with the following treatments: T1. Arena tezontle with Pirúl, T2. Arena tezontle with thyme, T3. Arena tezontle with rosemary, T4. Arena fungistático tezontle without (control), T5. Silica sand with pepper tree, T6. Silica sand with thyme, T7. Silica sand with rosemary, T8. Silica sand without fungistático (Witness), T9. Peet moss with Pirúl, T10. Peet moss with thyme, rosemary moss peet T11, T12. Peet moss without fungistático (control). An experimental design with two factors completely randomized with 5 repetitions for each treatment, with a stake used as an

experimental unit. The best result was obtained with the extract Pirúl in silica sand within 21 days of rooting.

### **3.3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.3.1. Sustratos**

El sustrato se define como todo aquel material sólido distinto del suelo (*in situ*), que puede ser natural, sintético o residual, de tipo mineral u orgánico, colocado en un contenedor en forma pura o mezcla, permite el anclaje del sistema radical y desempeña una función de soporte para la planta y puede intervenir o no en el proceso de nutrición mineral de la misma (Abad y Noruega, 2000).

Noruega (1997) menciona que los sustratos se clasifican de acuerdo con el origen del material en orgánicos e inorgánicos; la mayoría de los materiales orgánicos deben experimentar un proceso de compostaje para su adecuación.

- 1) Materiales orgánicos
  - a) Origen natural: se caracteriza por estar sujetos a descomposición biológica como turbas o peat moss.
  - b) De síntesis: son los polímeros orgánicos no biodegradables, que se obtienen mediante síntesis química como la espuma de poliuretano y poliestireno expandido.
  - c) Subproductos y residuos de diferentes actividades agrícolas, industriales y urbanas: como la cascarilla de arroz, pajas de cereales, fibra

de coco, orujo de uva, cortezas de árboles, aserrín y virutas de la madera, residuos sólidos urbanos y lodos de depuración de aguas residuales.

2) Materiales inorgánicos o minerales.

a) Naturales: se obtienen a partir de rocas o minerales de diversos orígenes como son arena, grava, tierra volcánica, entre otros; algunos de estos han sido modificados ligeramente mediante tratamientos físicos.

b) Transformados: son rocas o minerales a los que se les aplica tratamientos físicos que modifican notablemente sus características en comparación con los materiales de partida.

c) Residuos y subproductos industriales: comprende los materiales procedentes de actividades industriales, como escorias de hornos y estériles del carbón.

También se clasifican de acuerdo a sus propiedades en:

a) Sustratos químicamente inertes como son: arena granítica o silícea, grava, roca volcánica, perlita, arcilla expandible y lana de roca.

b) Sustratos químicamente activos como son: turbas rubias y negras, corteza de pino, vermiculita y materiales lignocelulósicos.

Las diferencias entre estos sustratos están determinadas por la capacidad de intercambio catiónico o la capacidad que tienen de aportar nutrimentos. Los sustratos químicamente inertes actúan como soporte de la planta y no intervienen en el proceso de adsorción y fijación de nutrimentos, mientras que los sustratos

químicamente activos actúan como depósitos de reserva de los nutrimentos como los fertilizantes cediéndole estos nutrimentos a las plantas para un óptimo desarrollo y rendimiento (Noruega, 1997).

Un sustrato es un sistema formado por tres fases: a) sólida, constituido por partículas, b) líquida, conformada por el agua que contiene sustancias disueltas y c) gaseosas, que es el aire del sustrato.

Muchas veces resulta imposible separar estas tres fases para entender las propiedades de los sustratos y sus repercusiones es necesario considerarlo como un sistema de matriz sólida/porosa, de forma análoga al que se utiliza en edafología para definir a los suelos en forma natural. La diferencia básica respecto a los suelos naturales radica en composición distinta de la matriz sólida, que así genera una configuración de poros diferentes en ambos casos (Ansorena, 1994).

#### **3.3.1.1. Selección de sustratos**

Al elegir un material, para ser considerado como sustrato, según Martínez *et al.* (1993) y Bunt (1988), dependerá de: a) Disponibilidad y homogeneidad: debe existir abundante cantidad y alta homogeneidad, ya que un cambio en la calidad del sustrato puede alterar el sistema de producción, lo que repercute en graves pérdidas en rendimiento. b) Propiedades físicas, químicas y biológicas: cuando dichas propiedades se consideran en forma grupal se pueden entender con mayor facilidad las analogías y diferencias entre los materiales usados como sustratos, c) características del lugar: las diferencias en cuanto a condiciones climáticas, calidad de agua de riego, variedades y ciclos de cultivo, en cada lugar son factores

determinantes para la elección del tipo de sustrato. d) Costo: es importante considerar este aspecto, pero no es una de las prioridades al momento de elegir.

### **3.3.1.2. Propiedades de los sustratos.**

Es de suma importancia conocer las propiedades físicas y químicas de los sustratos, pues dependiendo de las características físicas será la forma de suministrar los nutrientes, por ejemplo, mediante soluciones nutritivas (Verdonk, 2004). O bien las características químicas de los sustratos, pues de estas dependerá el buen manejo de las soluciones nutritivas y el riego, y por lo tanto se tendrá éxito en la producción del cultivo a establecer (Bures, 1998).

#### **Características físicas.**

La caracterización física estudia la distribución volumétrica del material sólido, agua y aire, así como su variación en función del potencial matricial (Abad *et. al.*, 2005). Por lo tanto, la caracterización física, según Abad y Noruega (2000), implica el estudio de: granulometría, densidad aparente, densidad real, espacio poroso total, relación agua/aire, capacidad de retención de agua, movilidad, contracción de volumen y conductividad hidráulica saturada.

#### **Características químicas**

Las características químicas de un sustrato se derivan de la composición elemental de los materiales y expresan la transferencia de nutrientes entre el sustrato y la solución del mismo. La interacción de las cargas electrostáticas en la superficie del material, las reacciones de degradación de la materia orgánica y las

reacciones de disoluciones e hidrolisis de los constituyentes minerales conforman, en conjunto, la reactividad del sustrato (Burés, 1997). La caracterización física involucra el estudio de: pH, salinidad, capacidad de intercambio catiónico (CIC), materia orgánica, relación carbono/nitrógeno y nutrimentos asimilables.

### **3.3.1.3. Descripción de algunos sustratos.**

#### **Tezontle**

Es un material de origen volcánico de color rojizo o negro, que se emplea como cubierta en los caminos rurales. Puede ser usado en sistemas hidropónicos debido a sus características favorables, como una buena aireación, químicamente inerte, estéril, aislante durable y económicamente accesible. Presenta algunas desventajas como la baja retención de agua y es relativamente pesado (Zuand y Musard, 1986).

El tezontle por lo general se vende a granel, es por esto que la granulometría es poco uniforme en cuanto a tamaño, se recomienda cribarlo y usar los tamaños menores a dos centímetros para cultivos hidropónicos, para la producción en maceta de hortalizas y flores se recomienda usar el material con diámetro menor o igual a 0.5 centímetros aquellos mayores a tres centímetros se recomiendan para cobertura de piso en invernaderos rústicos y así evitar las inundaciones (Marulanda, 2003; Urrestarazu, 2004).

#### **Turba o peat moss**

La descomposición parcial de musgos y juncos bajo condiciones ácidas de inundación y ausencia de nutrientes, son el origen de la turba; la descomposición parcial de los tejidos muertos se debe a que los microorganismos que fragmentan o descomponen las plantas son excluidos (Mastalerz, 1977).

En las últimas décadas, la turba o peat moss es uno de los sustratos más utilizados en Europa para los cultivos en maceta y en la horticultura sin suelo, gracias a las grandes reservas de turba de calidades favorables; actualmente, por cuestiones ambientales, se está limitando la extracción de turbas, por ser recursos no renovables y porque el transporte a países que no disponen de este material resulta muy costoso (Lemaire, 1993).

### **3.3.2. Descripción de las plantas utilizadas como fungistáticas (Tomillo, pirúl y romero)**

#### **3.3.2.1. Constituyentes principales del aceite esencial del tomillo**

La producción de aceite esencial de una planta dependerá de muchos factores, como por ejemplo las condiciones ambientales en las que se encuentra la planta, el tipo de cultivo, el manejo en la nutrición, la época del año en que se recolecte, etc. Por lo que al realizar un análisis para conocer el tipo de constituyentes los resultados serán muy variados en cuanto a la proporción en que estos se encuentren (Guerrero *et al.*, 2011).

Una de las técnicas para el análisis de estas plantas es la cromatografía de gases/Espectroscopia de Masas, que demuestra que los principales constituyentes de tomillo (*Tymus vulgaris* L.) de una planta adquirida en un mercado local de

Guadalajara Mexico, son borneol (28.4%), timol (16.6%), carvacrol metil éter (9.6%), canfeno (6.9%),  $\alpha$ -humulene (6.4%) y carvacrol (5.0%) (Soto *et al.*, 2006).

Mientras que los constituyentes de una plantación hidropónica, utilizando la misma técnica de análisis, son: p-cimeno,  $\alpha$ -terpineno, carvacrol y timol, siendo el timol el componente mayoritario con un 23.3% (Guerrero *et al.*, 2011).

### **Uso del tomillo en el control de hongos**

El timol es uno de los principales constituyentes del aceite esencial de tomillo, siendo este un compuesto muy utilizado para combatir el daño causado por hongos, principalmente en enfermedades fungosas del hombre, pero en los últimos años se ha demostrado el uso eficiente para el control de hongos fitopatógenos.

El timol a una concentración de 125 mg/L inhibe el crecimiento micelial de *Colletotrichum acutatum*, por otra parte, con una concentración de apenas 100 mg/L se evita la germinación de las esporas en un 100%. Mientras que al utilizar aceite esencial de tomillo es necesaria una concentración de 350 mg/L, para controlar el crecimiento del hongo.

Al realizar una evaluación sobre la toxicidad en hojas de *Solanum betacea* se determinó que a concentraciones menores de 1500 mg/L de aceite esencial de tomillo no genera ningún tipo de marchitamiento, deterioro del crecimiento o alteración del desarrollo general de las plantas. (Alzate *et. al.*, 2009)

La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de tomillo para *Aspergillus flavus* es de 50  $\mu$ g/ml, es decir que esta es la concentración en la cual

el aceite esencial de tomillo funciona como fungistático, pero si lo que se quiere es un efecto fungicida se debe utilizar una concentración de 250 µg/ml (Yumie *et. al.*, 2015).

En una evaluación sobre la actividad fúngica de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* y *Thymus vulgaris* contra cepas micotoxigénicas de *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium expansum* y *P. verrucosum*. Se demostró que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* es menos activo contra las especies de *Penicillium*, en comparación con el aceite de *O. gratissimum*. También se demostró que la actividad fúngica que presentan los aceites esenciales de las plantas antes mencionadas dependerá del pH en el que se encuentre el cultivo de hongos (Nguefack *et. al.*, 2009).

Para el control de *Botrytis cinérea* se evaluó el efecto fungistático de extractos y aceites esenciales de *Lippia origanoides* HBK y *Thymus vulgaris* L., siendo el mejor tratamiento el aceite de *Lippia origanoides* en una concentración de 128 mg/L. En este caso el aceite esencial de tomillo no es muy eficiente en cuanto al control de *Botrytis cinérea* en comparación con el aceite esencial de orégano de monte, el cual no presenta una diferencia significativa cuando se hace la evaluación in vivo en contraste con un fungicida comercial como el Benomil (Taborda *et. al.*, 2015).

El uso del aceite esencial de tomillo (*Tymus vulgaris* L.) a una concentración de 1000 ppm presenta una actividad fungicida contra *Alternaria citri*. Esto se demostró en una evaluación in vitro en un cultivo agar papa dextrosa (Soto *et. al.*, 2006).

Otro de los componentes del aceite esencial del tomillo es el 1.8-cineol, el cual no presenta gran actividad bactericida cuando se compara con otros compuestos como el geranial y neral de *Cymbopogon citratus* (zacate limón) o el linalool de *Laurus nobilis*. (laurel) Esta evaluación demuestra que las bacterias presentan mayor resistencia al uso de aceites esenciales de las plantas antes mencionadas, una de las bacterias menos sensible fue *Escherichia coli*, la cual solo fue inhibida por los aceites de *C. citratus* y *L. nobilis* (Farias *et al.*, 2012).

La adición de aceite esencial de tomillo en filetes de trucha arcoíris, que han sido envasados al vacío y refrigerados durante 150 días, ha servido para conservar dichos filetes, teniendo una calidad sensorial aceptable, así como también inhibiendo el crecimiento microbiológico. En este caso Zayde (2011), demuestra la capacidad fungistática del aceite esencial de tomillo.

### **3.3.2.2. Constituyentes principales del pirúl (*Schinus molle*)**

El pirul (*Schinus molle* L.) pertenece a la familia de las Anacardiaceae, y es conocida vulgarmente como "pirúl", árbol del Perú o falso pimentero (Ramírez-Albores y Badano, 2013). Es una especie originaria de América del sur, principalmente Perú, aunque se extiende de Ecuador a Chile y Bolivia (Zuñiga, 2011) y en México crece silvestre en pastizales secundarios y matorrales crasicales de algunas zonas templadas y áridas, especialmente donde la vegetación primaria sufrió alteraciones (Camacho, 1985) y se asocia generalmente con pocas especies de plantas y que produce gran cantidad del terpeno felandreno

y del alcohol terpenoide carvacol, los cuales son acumulados y eliminados a través de hojas y frutos.

Es un árbol de 15m de altura, siempre verde con ramas colgantes, aromático resinoso, con tronco grueso. Es una especie “polígamo dioica” es decir que algunas de sus flores son hermafroditas (con ambos sexos) en tanto que otras son masculinas; las hermafroditas y las masculinas están separadas en distintos árboles. Las flores son panículas axilares en las hojas terminales, de 10 a 15 cm de largo, flores muy pequeñas y numerosas, de color amarillento, miden 6 mm transversalmente (Zuñiga, 1985). Los frutos son drupas de 5 a 8 mm de diámetro, cuyo endocarpio, relativamente duro, contiene por lo general una sola semilla (Camacho, 1985). Las semillas poseen un embrión bien diferenciado que llena toda la cavidad; la testa y el endospermo son delgados, el mesocarpo forma parte de la unidad de dispersión (Zuñiga, 2011).

Esta especie es de fácil adaptación, es una planta con buena capacidad competitiva, al capturar nutrientes, agua y luz eficientemente. Tiene un rápido crecimiento cuando es joven, alcanza 3 m de altura en un año. Presenta alopatía, es decir; inhibe el crecimiento y/o desarrollo de plantas vecinas (Shoreque, 2013).

Desde su introducción, el Pirúl se ha arraigado fuertemente en las tradiciones mexicanas por sus múltiples usos (Ramírez-Albores y Badano, 2013). Estudios realizados reportan que los aceites de *Schinus molle* L. muestran actividad antibacteriana contra cepas Gram (+) como *Staphylococcus aureus*, y 38 contra Gram (-) tales como: *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella*

*pneumoniae* y *Proteus vulgaris* (Shoreque, 2013), por otra parte, el aceite esencial de las hojas y frutos ha mostrado ser un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera (Zuñiga, 1985).

Además de la utilidad de su madera como combustible y en fabricación de mangos de herramientas, estacas y enceres rurales, la corteza, gomorresina, esencia y fruto tienen propiedades medicinales y potencialidades industriales (Camacho, 1985). Este árbol se considera prioritario en la reforestación de áreas muy degradadas, por soportar sequias, heladas, suelos ligeramente salinos y porque no lo consume el ganado (Camacho, 1985).

### **Composición química**

**Hojas:** presentan una gran cantidad de compuestos que le dan la característica de ser muy aromáticas, estos compuestos son: taninos, flavonoides libres y combinados, carbohidratos, antocianidinas, saponinas, ácido linoleico, behémico, lignocérico, triterpenos, glicósidos además de contener alcaloides, esteroidales, esteroles, terpenos y aceite esencial presente en las hojas contiene, bergamota, bicyclogermacreno, borneno, cadineno, cadinol, calacoreno, calamenediol, calamaneno, canfeno, carvacrol, ácido gálico, butirato de geraniol, limoneno, mirceno, ácido palmítico (Bendaoud, 2010).

**Semillas y frutos:** estas se caracterizan por contener ácido linoleico, además de otros compuestos presentes que en conjunto forman lo que se conoce como aceite esencial, y la cantidad de dicho aceite presente en la semilla dependerá de la época del año en que se encuentre.

**Corteza:** La corteza presenta una importante cantidad de taninos, oleorresinas, ácido linoleico, erúxico y lignocérico (Carrere, 2009).

Mientras que el olor característico del pirul se debe sustancias como el terpeno felandreno y un alcohol terpenoide carvacol, presentes en las hojas y frutos, lo cuales son unos compuestos muy volátiles y que el árbol los utiliza como compuestos alelopáticos (Anaya, 1970).

La extracción del aceite esencial de pirúl, puede realizarse de diferentes maneras, una de ellas es la destilación a vapor, proceso mediante el cual se identificaron 57 compuestos, principalmente  $\alpha$ -phellandrene (46,52%)  $\beta$ -phellandrene (20,81%),  $\alpha$ -terpineol (8,38%),  $\alpha$ -pineno (4,34% y p-cimeno (2,49%), (Bendaoud, 2010).

### **Usos del pirúl**

El uso del pirúl en México, es principalmente para realizar limpieas o barridos, y demás cosas derivadas del misticismo, pero en la actualidad se han realizado estudios para evaluar el aceite esencial del pirúl, uno de ellos es la efectividad del aceite para el control de células de cáncer de mama, debido a sus propiedades antioxidantes (Bendaoud, 2010).

Además, en otras partes del mundo se han estudiado los posibles usos de esos compuestos y se demostró que el aceite esencial de las hojas y frutos es un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera así como también en Etiopia se demostró que tienen una actividad antialimentaria, también

se encontró utiliza para el control de plagas agrícolas como *Phthorimaea operculella* Zeller (Lannacone y Lamas, 2003).

Otros estudios reportan la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Schinus molle* L. contra *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*. Así como también se reporta la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales concluyendo que presenta actividad inhibitoria de bacterias, hongos y levaduras (Alba *et. al.*, 2009).

### **3.3.2.3. Constituyentes principales del aceite esencial del romero (*Rosmarinus officinalis*)**

En otro estudio se determinó la presencia de 1,8 cineol (21.5%), alcanfor (18%) y alfa pineno (15.3%). (Romeu, 2007; Ait-Ouazzoou, 2011).

En una evaluación del efecto insecticida del aceite esencial de romero, se determinó que en concentraciones del .25 y .50% mediante el método de inmersión, se logra controlar la población de *Tetranychus tumidus* Banks al 100%, esto cuando los componentes mayoritarios de la planta son 1,8 cineol (21.5%), alcanfor (18%) y alfa pineno (15.3%).

## **3.4. OBJETIVO**

Encontrar la mejor respuesta de diferentes extractos vegetales fungistáticos y sustratos para el enraizamiento y brotación vegetativa de esquejes de higuera.

### **3.5. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.5.1. Sitio experimental**

La investigación se realizó en un invernadero del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado a los 19° 27' 30" latitud norte y 98° 54', 14" longitud oeste y una altitud de 2240 msnm.

#### **3.5.2. Material vegetal**

Se utilizó un cultivar criollo denominado Nezahualcoyotl, con frutos de epicarpio negro pálido y pulpa de color púrpura. Extraído de una plantación en invernadero, en su octavo ciclo de producción.

#### **3.5.3. Materiales**

Arena sílica, Arena de tezontle, Peat moss, 4 m de plástico transparente (forro de libretas), 4 Placas de unicel de 5 mm de espesor, Cinta adhesiva de 10 cm de ancho, Cuter, 1 kg de planta verde de romero, 1 kg de planta verde de pirúl, 1 kg de planta verde de tomillo, Agua pura, Alcohol de 90°, Radix 3000 ® liquido, 2 m de plástico blanco lechoso 50%, Charola de metal prefabricada de 70 x 35 x 6 cm.

#### **3.5.4. Metodología**

##### **3.5.4.1. Preparación de infusiones**

Se prepararon las infusiones de las plantas fungistáticas, según la metodología propuesta por Mendoza y Lugo (2010), se utilizó la parte aérea de cada planta. El material vegetal se cortó un día antes y se dejó orear bajo la sombra. Una

vez teniendo el material listo se procedió a calentar 500 ml de agua hasta su punto de ebullición en una estufa de gas, posteriormente se retiró del fuego y se le agregó 15 g. de planta, (en este caso se consideró como material fresco, ya que al utilizar material vegetal completamente seco se recomienda utilizar de 10 a 15 gramos por litro de agua y de 25 a 30 g d planta fresca), se tapó el recipiente y se dejó reposar por 24 horas.

#### **3.5.4.2. Preparación de la cámara de enraizamiento**

La cámara de enraizamiento consistió en elaborar 12 pequeñas subcámaras con plástico de polipropileno, formando cajones de 8 X 23 X 40 cm, los cuales se colocaron dentro de una charola prefabricada con dimensiones de 35 X 70 X 5 cm, a la cual se le inserto una placa de unicel de 1 cm de alto para que el sustrato se aislara del frio de la charola metálica. Posteriormente se procedió a agregar un litro de sustrato, previamente humedecido a capacidad de campo, por subcámara de plástico de acuerdo al arreglo del diseño experimental.

Preparación de la estaca. Para la obtención de la estaca las plantas fueron defoliadas 5 días con la intención de obtener la brotación de la yema vegetativa al momento de su establecimiento. Estas se cortaron a un nudo, y en la parte basal se le realizaron de 3 a 4 incisiones verticales de 3 cm de longitud aproximadamente. Se introdujeron un Radix 3000 ® líquido por 5 segundos aproximadamente.

Siembra. Para la siembra se hicieron pequeños surcos en las subcámaras para colocar la estaca, dejando fuera solo la yema vegetativa y el resto del tallo fue enterrado. Se colocaron 5 estacas por subcámara.

Una vez sembrada la cama completa se procedió a colocar 10 ml de la infusión de los fungistáticos vegetales al pie de cada estaca establecida, de acuerdo al diseño experimental.

Posteriormente se sellaron las subcámaras realizando un pequeño doble en la parte superior de las subcámara y sellando con cinta adhesiva, al final de esta práctica se procedió a sellar la cámara externa con plástico blanco lechoso al 30%, de tal manera que no existiera ninguna fuga.

El experimento se inició el 25 de marzo de 2015 y se concluyó el 16 de abril del 2015, al finalizar los 22 días.

#### **3.5.4.3. Tratamientos, diseño y unidad experimental**

Los tratamientos consistieron en evaluar el efecto fungistático de *Schinus molle* (pirúl), *Thymus vulgaris* (Tomillo), *Rosmarinus officinalis* (Romero) en tres diferentes sustratos (arena silica, arena de tezontle rojo y peat moss) en el enraizamiento de estacas de *Ficus carica* L.; resultando los siguientes tratamientos: T1. Arena de tezontle con pirúl, T2. Arena de tezontle con tomillo, T3. Arena de tezontle con romero, T4. Arena de tezontle sin fungistático (testigo), T5. Arena silica con pirúl, T6. Arena silica con tomillo, T7. Arena silica con romero, T8. Arena silica sin fungistático (Testigo), T9. Peet moss con pirúl, T10. Peet moss con tomillo, T11 peet moss con romero, T12. Peet moss sin fungistático (testigo).

Se utilizó un diseño experimental con dos factores completamente al azar con 5 repeticiones para cada tratamiento, con una estaca como unidad experimental.

Las variables de estudio fueron:

**Número de raíces.** Se contó el número de raíces emergidas 22 días después de su establecimiento.

**Largo de raíz.** Se midió la longitud de 10 raíces con un Vernier Digital 150 mm.

**Número de brotes.** Se contó el número de brotes emergidos durante el periodo de enraizamiento de las estacas (22 días).

**Largo de brote.** Se midió el largo del brote desde la parte basal hasta la parte apical de dicho brote, utilizando Vernier Digital 150 mm.

**Número de hojas por brote.** Se contabilizó el número de hojas visibles de cada brote.

**Largo de hoja.** Se midió el largo de las hojas más sobresalientes de los brotes, desde el peciolo hasta el ápice de la lámina. Vernier Digital 150 mm.

**Peso fresco de raíz.** Se procedió a cortar todas las raíces de la estaca para pesarlas en una báscula de precisión.

**Peso fresco de brote.** Se cortaron los brotes de cada estaca y fueron pesados en una báscula de precisión.

**Grado de infección.** Para la evaluación del grado de infección se estableció una escala del 0 al 5, teniendo en cuenta el número 5 correspondía a una estaca dañada al 100% y el 0 correspondía a una estaca totalmente sana.

**Análisis estadístico.** Se realizó un análisis de varianza y se aplicaron las pruebas de comparación múltiple de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), utilizando el programa estadístico SAS versión 9.1.3, (SAS Institute, 2006).

**Diseño experimental.** Se desarrolló un experimento factorial con un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones y una estaca como unidad experimental.

Para la parte de estadística no paramétrica se procedió a realizar la prueba de Kruskal – Wallis.

### **3.6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al evaluar las características del enraizamiento de las estacas tratadas con los fungistáticos y el testigo en los tres sustratos respectivos se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 1):

**Número de raíces:** las estacas establecidas en arena sílica presentaron el mayor número de raíces (75.75) siendo el mejor tratamiento, estadísticamente superior al número de raíces obtenido en la arena de tezontle (45.45) y el tratamiento con menor número de raíces estadísticamente inferior a los otros dos fue el establecido en peat moss (21.95 raíces). De acuerdo a estos resultados se puede inferir que el uso de fungistáticos para evitar la presencia de hongos se manifiesta con mayor eficiencia en la arena sílica, expresándose en mayor número de raíces por estaca.

**Longitud de raíces:** estadísticamente fue mayor la longitud media de las raíces (17.8 mm) en la arena de tezontle que la de peat moss que alcanzó un valor de 17.075 mm y en ambos sustratos la longitud de la raíz se superó a la de las estacas establecidas en la arena sílica que solo registro un valor de 15.9 mm. Al analizar la elongación de las raíces con respecto al sustrato de arena sílica que resultó con mayor número de raíces presenta en este caso la menor longitud de las mismas lo que refleja que la competencia por nutrimentos retrasó el crecimiento de un alto número de raíces no así en la arena de tezontle y peat moss donde la elongación fue mayor. Con respecto a la acción de los fungistáticos en esta variable no se reflejó en forma significativa.

**Peso fresco de raíces:** las raíces más vigorosas que registraron mayor peso fresco fueron las establecidas en arena de tezontle (175 mg) siendo este estadísticamente superior al peso fresco alcanzado en los tratamientos establecidos en arena sílica (147.6 mg) y el valor de peso fresco de raíces estadísticamente más bajo se obtuvo en los tratamientos establecidos en peat moss (86.3 mg). Estos resultados sugieren que la elongación de las raíces contribuye significativamente al incremento de su peso fresco por encima del número de las mismas lo que se refleja en las raíces de las estacas establecidas en peat moss que, aunque su número es menos que las establecidas en arena sílica su peso fresco es mayor y en el peat moss aunque la longitud de las raíces fue mayor que en la arena sílica su bajo número no se ve compensado en peso fresco.

**Cuadro 1. Comparación de valores promedio para la variable sustratos, en características de raíz de higuera (*Ficus carica* L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas**

Tratamiento	Número	Longitud (mm)	Peso fresco (mg)
Tezontle	45.45 b	17.8250 a	175.000 a
Arena sílica	75.75 a	15.9250 c	147.6500 b
Peet mos	21.95 c	17.075 b	86.3000 c
DMS	6.77	0.12	0

†Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

Al analizar la comparación de valores promedio de la acción de los fungistáticos sobre las características morfológicas de la raíz se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 2):

**Número de raíces:** las estacas tratadas con el extracto acuoso de pirúl presentaron el mayor número de raíces con un valor estadísticamente superior al resto de los tratamientos fungistáticos (55.9 raíces) solo igualado estadísticamente con el número de raíces de las estacas tratadas con tomillo (49.3), el testigo y las estacas tratadas con romero y tomillo generaron un número de raíces estadísticamente igual. Lo que significa que la acción del pirúl como fungistático se reflejó en mayo número de raíces por estaca en los tres sustratos utilizados superando en 31.2% al testigo, por lo que es posible su utilización para reducir la pudrición de las estacas y asegurar su enraizamiento.

**Longitud de raíces:** la longitud máxima de raíz se alcanzó con el tratamiento en donde las estacas fueron tratadas con el extracto de pirúl (20.6 mm) siendo este tratamiento estadísticamente superior a todos los demás, por otra parte, la longitud media de las raíces de los tratamientos en donde las estacas se trataron con extracto acuoso de tomillo y romero fueron inferiores estadísticamente con los resultados obtenidos en el testigo (14.3, 15.9 y 16.9 mm respectivamente). El tratamiento con menor longitud de raíces fue el del fungistático de tomillo con un valor de 14.3 mm siendo un 15.4 % menor con respecto al testigo. De esta manera se infiere que la acción de los compuestos presentes en las plantas de tomillo y romero interfiere en el crecimiento de las raíces, por otra parte, se observa que de forma natural un bajo número de raíces induce un crecimiento longitudinal mayor (como en el testigo). También se observa que en el caso de las estacas tratadas con pirúl brotaron mayor cantidad de raíces y los compuestos secundarios del pirúl inhibieron el crecimiento de patógenos que le permitieron a las estacas desarrollar sus raíces longitudinalmente.

**Peso fresco:** en el peso fresco el tratamiento que obtuvo un valor estadísticamente superior a todos los demás fue en el que se trataron las estacas con pirúl con un valor de 191.6 mg. En segundo lugar, se encontró el tratamiento donde se agregó el extracto con romero con un valor de 143.4 mg estadísticamente superior al testigo (129.5 mg) pero inferior al de pirúl (191.6 mg), se observó también que el valor de peso fresco obtenido en el tratamiento de tomillo (80.6mg) resultó ser estadísticamente inferior al obtenido con el testigo. El valor obtenido en el peso

fresco de pirúl se debe a que este tratamiento presentó mayor número y mayor longitud de raíces.

**Cuadro 2. Comparación de valores promedio para fungistáticos, en características de raíz de higuera (*Ficus carica* L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas**

Tratamiento	Número	Longitud (mm)	Peso fresco (mg)
Pirúl	55.933 a	20.6000 a	191.6666 a
Tomillo	49.333 ab	14.3000 d	80.6666 d
Romero	43.000 b	15.9000 c	143.4000 b
Testigo	42.600 b	16.9666 b	129.53333 c
DMS	8.609	0.16	6.5

†Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

Al hacer el análisis de comparación de valores promedio de la interacción de sustratos con crecimiento vegetativo de higuera se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 3):

**Brotos:** los mejores resultados se obtuvieron de las estacas tratadas con extracto acuoso de fungistáticos, establecidas en los sustratos de peat moss y arena sílica (1.35 y 1.275 respectivamente) sin diferencias estadísticas entre ambos, el menor valor estadístico (1.175) fue para las que se establecieron en sustrato de arena de tezontle. Lo que probablemente puede explicar este comportamiento es que la arena sílica y el peat moss retuvieron mayor cantidad de humedad que la arena de tezontle la cual es más permeable favoreciendo con ello el crecimiento de los tallos.

**Longitud de brotes:** los resultados de la prueba de valores promedio indicaron que las estacas establecidas en peat moss (16.92 mm) fueron las que presentaron mayor longitud de brote seguidas por las establecidas en arena de tezontle (11.07 mm) y las de menor tamaño fueron las establecidas en arena sílica con solo 9.28 mm, lo que confirma que la capacidad de retención de humedad del peat moss contribuye a la elongación de los tallos emergidos de las estacas a temprana edad no así en la arena de tezontle y arena sílica que son sustratos más permeables que pierden más rápido la humedad a lo largo del proceso de enraizamiento de las estacas (22 días).

**Hojas:** el mayor valor estadístico promedio lo obtuvieron las estacas establecidas en arena sílica (2.325) seguidas por las establecidas en la arena de tezontle (2.313) y el menor valor estadístico lo obtuvieron las estacas establecidas en peat moss con 1.85, esto significa que los tallos de las estacas establecidas en el peat moss aunque presentó mayor número y mayor longitud tienen menos hojas dando la apariencia de tallos etiolados, no así las establecidas en arena sílica que presentan tallos más cortos pero más foliados.

**Longitud de hojas:** en esta variable destacan las desarrolladas sobre el sustrato de arena de tezontle con 27.05 mm, valor superior al de las establecidas en peat moss con 24.525 mm y ambas son estadísticamente diferentes a las de arena sílica que solo alcanzaron 23.2 mm de longitud, entonces la longitud de las hojas es el resultado de la interacción del número de hojas del número de brotes y la longitud de brotes por lo que no sigue un patrón de comportamiento paralelo a estas variables.

**Peso de brotes:** el mayor valor lo presentaron los tallos emergidos de las estacas establecidas en peat moss con 435.3 mg superando estadísticamente a las establecidas en tezontle con 401.8 mg y ambas superiores a los que se desarrollaron en arena sílica con 274.8 mg. Este comportamiento es explicable partiendo de que la mayor cantidad y longitud de brotes la presentaron las estacas establecidas en peat moss y aunque tuvieron menos hojas y una longitud de hojas intermedia el mayor peso se expresó por el componente tallos.

**Cuadro 3. Comparación de valores promedio de la interacción sustratos con crecimiento vegetativo de higuera (*Ficus carica* L.) en propagación por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas**

Tratamiento	Brotes	Longitud (mm)	Hojas	Longitud (mm)	Peso de brote (mg)
Tezontle	1.175 b	11.07 b	2.313 b	27.050 a	401.8 b
arena sílica	1.275 a	9.28 c	2.325 a	23.200 c	274.8 c
peat moss	1.35 a	16.92 a	1.850 c	24.525 b	435.3 a
DMS	0.0987	2	0.012	1.3	10

†Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

El análisis de la comparación de valores promedio de la interacción fungistáticos con crecimiento vegetativo de higuera arrojó los siguientes resultados (Tabla 4)

**Brotes:** en esta variable resultaron estadísticamente superiores los brotes tratados con pirúl y tomillo (1.466 y 1.4 respectivamente) en segundo término quedaron los tratados con romero y el testigo ambos con un valor de 1.1 de tal

manera que el efecto fungistático sobre las estacas tratadas facilitó la brotación vegetativa superando al testigo.

**Longitud de brotes:** en esta variable el testigo (11.0 mm) fue superado por los brotes tratados con pirúl (20.1 mm) quedando por abajo del testigo los tratados con romero (9.67 mm) y tomillo (8.93mm) se aprecia que el pirúl resultó ser un excelente fungistático para favorecer el crecimiento vegetativo aéreo de las plantas de higuera en propagación.

**Hojas:** los resultados obtenidos en esta variable son paralelos a los de la variable anterior destacando las estacas tratadas con pirúl con 2.417 que superan estadísticamente al testigo (2.333).

**Longitud de hojas:** nuevamente las hojas de los brotes tratados con pirúl (32.37 mm) superaron estadísticamente a las tratadas con tomillo (24.633mm), a las tratadas con romero (20.00 mm) y las del testigo (22.333 mm).

**Peso de brote:** al analizar la comparación de valores promedio de esta variable presentó la misma tendencia que las variables anteriores destacando la acción fungistática del pirúl (648.3 mg) superior estadísticamente al testigo (360.7 mg) el cual estuvo por encima de tomillo (193.7 mg) y romero (279,7 mg). En este apartado cabe destacar la acción favorable del extracto acuoso de pirúl para inducir el crecimiento vegetativo de los brotes emergidos de las estacas en el proceso de enraizamiento durante 22 días.

**Cuadro 4. Comparación de valores promedio de la interacción fungistáticos con crecimiento vegetativo de higuera (*Ficus carica* L.) en propagación clonar por estacas tratadas con extracto acuoso de tres plantas fungistáticas**

Tratamientos	Brotes	Longitud (mm)	Hojas	Longitud (mm)	Peso de brote (mg)
Pirúl	1.4666 a	20.10 a	2.417 a	32.733 a	648.3 a
Tomillo	1.4000 a	8.93 d	2.133 c	24.633 b	193.7 d
Romero	1.1000 b	9.67 c	1.767 d	20.000 d	279.7 c
Testigo	1.1000 b	11.00 b	2.333 b	22.333 c	360.7 b
DMS	0.125	1		0	0

†Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

De acuerdo a la revisión bibliográfica es de suma importancia conocer las características que proporciona cada sustrato, así como su origen y composición química, de esta manera podemos sugerir el uso de uno u otro de acuerdo a nuestras necesidades (Abad y Noruega, 2000).

La arena de tezontle, por ser un sustrato inorgánico, químicamente inerte con una buena aireación, pero baja retención de agua, generó un 40% menos raíces que el sustrato arena sílica, esto debido al gran espacio poroso que existe entre sus partículas que permiten el escape del agua, por lo que la falta de humedad no permitió que la estaca generara mayor número de raíces, y esto se ve reflejado en

el largo de raíz, ya que al no tener humedad cerca, dichas raíces se ven obligadas al alargamiento con la intención de encontrar agua y nutrientes.

Mientras que la turba (peat moss), por ser un sustrato orgánico natural químicamente activo, formado por la descomposición parcial de musgos y juncos es un material muy heterogéneo, el cual puede ser muy variable por su pH, cantidad de minerales presentes, cantidad de materia orgánica, y grado de descomposición (Barbaro *et. al.*, 2011).

Tiene un espacio poroso menor que la arena sílica por lo que la retención de agua es mayor, y como consecuencia se tiene la pudrición de la estaca o si brotan las raíces la pudrición de las mismas, por estar demasiado tiempo en contacto con la humedad, debemos tener en cuenta que en la generación de raíces interviene también el pH del sustrato, se utilizó una turba oscura con un pH ácido entre cinco y seis (Barbaro *et. al.*, 2011), esto pudo haber interferido en la generación de raíces, ya que fue el tratamiento que menos raíces emitió, así como también la longitud de raíz fue inferior a los otros dos tratamientos.

Por lo tanto, el mejor sustrato que resultó de esta investigación es la arena sílica, primeramente, por ser un material químicamente inerte, con características físicas que permiten el buen enraizamiento de estacas de higuera, dichas características son que tiene un tamaño de partícula más uniforme que los dos anteriores y mejor retención de humedad.

La acción fungistática del pirúl posiblemente es el efecto de la interacción de dos metabolitos secundarios (Gonzales *et. al.*, 2009), que son el carvacrol

identificado como un fungistático para hongos relativamente débiles (Soto *et al.*, 2006) y el limoneno, considerado como la principal sustancia repelente a todos los herbívoros, incluyendo vertebrados e insectos por lo cual es reportado como un insecticida vegetal de amplio espectro, de tal manera que si en todos los sustratos tratados con extracto acuoso del pirúl se presentó la mayor cantidad y longitud de raíces en las estacas de higuera, este efecto se explica por la acción conjunta de estos dos compuestos fitoquímicos.

El carvacrol también es un compuesto fitoquímico contenido en el tomillo en igual concentración que el pirúl (Gonzales *et al.*, 2009; Guerrero *et al.*, 2011), sin embargo la acción fungistática del extracto acuoso aplicado en los diferentes sustratos fue estadísticamente igual al pirúl, pero aritméticamente menor lo que refleja la falta de acción conjunta con otro fitoquímico. Por lo anterior se recomienda la utilización del aceite esencial de tomillo que representa altas concentraciones de carvacrol (Alzate *et al.*, 2009).

Al hacer la comparación de valores promedio, resultó estadísticamente igual la aplicación de los extractos acuosos de tomillo y romero con una baja acción fungistática al igualarse al testigo no tratado, debido a que el efecto fungistático es mínimo al estar utilizando extracto acuoso donde la baja concentración de carvacrol y 1-8 cimeol identificados como los fitoquímicos con efecto fungistático da como resultado una baja acción en los tratamientos, por lo que es recomendable la extracción del aceite esencial para el control de los hongos fitopatógenos donde la concentración de estos productos es mucho mayor (Farias *et al.*, 2012; Romeu, 2007; Ait-Ouazzoou, 2011).

### **3.7. CONCLUSIONES**

Al utilizar arena sílica como sustrato para el enraizamiento de estacas de higuera, resultó un sistema radical más fuerte y homogéneo ya que presenta mejores condiciones físicas y químicas que los otros sustratos.

El extracto acuoso de pirúl favoreció un mayor número de raíces por estacas, mayor longitud y peso fresco que los demás sustratos acuosos utilizados, los compuestos secundarios presentes en el pirúl evitan el crecimiento de hongos que afectan a la raíz, y la estaca utiliza sus reservas energéticas para el desarrollo de las raíces y no en el control del ataque.

El peat moss como sustrato favoreció una parte aérea mejor desarrollada, con una longitud, cantidad y peso fresco mayor de brotes en comparación con los brotes observados en las estacas enraizadas con los demás sustratos.

Al utilizar el extracto acuoso de pirúl se observó una parte aérea más desarrollada, puesto que se tuvo un mayor número de brotes, mayor número de hojas, una mayor longitud y peso en comparación con los demás extractos utilizados.

### 3.8. LITERATURA CITADA

- Alba, A., P. Bonilla y J. Arroyo. 2009. Actividad Cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. "Molle" en ganado vacuno con heridas infectadas y ratones. *Ciencia e Investigación*. 12(1): 29-36.
- Alzate, O. D. A., M. G. I. Mier, K. L. Afanador, R. D. L. Durango y P. C. M. García. 2009. Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *Vitae*. 6 (1): 116-125.
- Barbaro, L. A., M. A. Karlanian, S. Imhoff y D. E. Morisigue. 2011. Caracterización de la turba subtropical del departamento Islas del Ibicuy (Entre Rios, Argentina). *Rev. Agriscientia*. 28 (2): 137–145.
- Bendaoud, H., M. Romdhane, J. P. Souchard, S. Cazaux, and J. Bouajila. 2010, Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus Terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. *Journal of Food Science*. 75 (6): 466-472.
- Yumie-Kohiyama, C., Yamamoto-Ribeiro M. M., Galerani-Mossini A. S., Bando E., Da Silva-Bomfim N., Botião-Nerilo S., Oliveira-Rocha G. H., Grespan R., Graton-Mikcha. J. M. and Machinski M. Jr. 2015. Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*. 173: 1006-1010.

- Carrere, R. 2009. Anacahuita (*Schinus molle*): la indígena más popular. Colección del Grupo Guayabira Sobre Especies Indígenas. 15 pp.
- Chirino, M., M. Carriac y A. A. Ferrero. 2001. Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Bol. San. Veg. Plagas. 27: 305-314.
- Dal Bello, G. y S. Padín. 2006. Olfatómetro simple para evaluar la actividad biológica de aleloquímicos vegetales en *Tribolium castaneum* HERBST (Coleoptera: Tenebrionidae). Agrociencia. 10 (2): 23–26.
- Farias, M. A., C. D. Soares, R. D. Francisco, C. M. Graças and P. R. Hilsdorf. 2012. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 32 (1): 167-172
- Guerrero, L. L. A., P. L. M. Ruiz, M.M. N. Rodríguez, Soto H. M. y M. A. Castillo. 2011. Efecto del cultivo hidropónico de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) en la calidad y rendimiento del aceite esencial. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(2): 141-149.
- Guevara, C. D. J. 2014. Efecto de extractos de *Schinus molle* (L.) Y *Artemisia absinthium* (L.), Solos y en mezcla con *Bacillus thuringiensis* (Berliner), sobre *Heliothis zea* (Boddie). Tesis doctoral.

- Lanncone, J. y G. Lamas. 2003. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidóptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica*. 18 (2): 95-105.
- Layne, A. y J. Mendez. 2007. Efectos de extractos acuosos de la maleza *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) cv. Pioneer 3031. *Rev. Peru. biol.* 14 (1): 055-060.
- Mendoza, C. G. y P. R. Lugo. 2010, *Farmacia viviente: conceptos, reflexiones y aplicaciones*. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Primera Edición, estado de México. México. pp. 181-183.
- Nguefack, J., D. J. B. Lekagne, C. D. Dakole, V. Leth, H. F. Vismer, J. Torp, E. F. N. Guemdjom, M. Mbeffo, O. Tamgue, D. Fotio, P. H. Amvam and A. E. Nkengfack. 2009. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *International Journal of Food Microbiology*. 131: 151-156.
- Orozco-Gonzales, C., E. Guerrero-Rodriguez, J. Landeros-Flores, M.A. Garcia-Martinez, R. Mendoza-Villareal y R. H. Lira-Saldivar. 2009. Actividad biológica *in vitro* de extractos de plantas del Sureste de Coahuila, México, contra *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Agraria - Nueva Epoca*. 6 (6): 25-30.

- Soto-Mendívil, E. A., J. F. Moreno-Rodríguez, M. Estarrón-Espinosa, J. A. García-Fajardo, and E. N. Obledo-Vázquez. 2006. Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. e-Gnosis [en línea]. 4(16): 1-7.
- Taborda, A. L. A., O. M. S. Sánchez, C. C. R. Bonilla y D. C. Huertas. 2015. Efecto fungistático de extractos y aceites esenciales de *Lippia origanoides* HBK y *Thymus vulgaris* L. como alternativas de manejo de *Botrytis cinerea* en fresa. Acta Agronómica. 64 (1): 93-99.
- Villavicencio, N. M. A. y E. B. E. Pérez. 2010. Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. Publibotánica. 30: 193-230.
- Werdin, J. O., A. P. Murray and A. A. Ferrero. 2008. Bioactividad de aceites esenciales de *Schinus molle* var, *areira* (Anacardiaceae) en ninfas II de *Nezara viridula* (Hemiptera: pentatomidae). Bol. San. Veg. Plagas. 34: 367-375,
- Zayde, A. 2011. The effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil concentration on liquid-smoked vacuum-packed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) fillets during chilled storage. Food Chemistry. 128: 683-688.