



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA Y BACTERICIDA  
DEL EXTRACTO DE *Moringa oleifera* Y *Petiveria alliacea* EN  
CULTIVOS MICROBIANOS PROCEDENTES DE PLAGAS QUE  
INFECTAN A *Mangifera indica***

**Trabajo de Titulación**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTOR:** FABIÁN ALCIDES VALDIVIEZO ROJAS

**DIRECTORA:** BQ. MISHHELL CAROLINA MORENO SAMANIEGO MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Fabián Alcides Valdiviezo Rojas**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, FABIÁN ALCIDES VALDIVIEZO ROJAS, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 10 de agosto de 2022.



**Fabián Alcides Valdiviezo Rojas**

**C.I.: 1311970873**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, **ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA Y BACTERICIDA DEL EXTRACTO DE *Moringa oleifera* Y *Petiveria alliacea* EN CULTIVOS MICROBIANOS PROCEDENTES DE PLAGAS QUE INFECTAN A *Mangifera indica***, realizado por el señor: **FABIÁN ALCIDES VALDIVIEZO ROJAS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. María Rafaela Viteri Uzcategui MSc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-08-10
BQ. Mishell Carolina Moreno Samaniego MSc. <b>DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2022-08-10
Ing. Juan Carlos González García MSc. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-08-10

## **DEDICATORIA**

Principalmente a mí.

A mis padres, Mayi y Alcides y a mi hermana Fransheska, por su apoyo incondicional, por motivarme a cumplir cada una de las metas que me propongo y apoyarme durante toda mi vida universitaria.

Y a Máx.

***Fabián***

## **AGRADECIMIENTO**

A mi familia por el apoyo brindado durante cada etapa de mi vida.

A mi tutora, Mishell Moreno, por ser la guía principal en el desarrollo de mí trabajo de titulación, por el tiempo, conocimientos, paciencia, consejos y por toda la ayuda brindada en el transcurso del desarrollo de mi trabajo de titulación.

A todas las técnicas docentes de los laboratorios en los cuales trabajé, por abrirme las puertas y compartir sus conocimientos y experiencias. Y a la ing. Vero Moreno, por siempre ayudarme con sus consejos.

A Lía y Magno por siempre estar en los buenos y malos momentos.

A todos mis amigos, por sus consejos, apoyo y experiencias vividas, en especial a Rony R., Pamela P., Karen D., Daniel V. y Joselyn L.

Y sobre todo me agradezco a mí, por mantenerme fuerte y no rendirme.

*Fabián*

## TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRAFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. <i>Manguifera indica</i> .....	5
1.1.1. <i>Importancia económica en el Ecuador</i> .....	5
1.1.2. <i>Clasificación taxonómica</i> .....	6
1.1.3. <i>Problemas fitosanitarios</i> .....	6
1.2. <i>Moringa oleifera</i> .....	9
1.2.1. <i>Clasificación taxonómica</i> .....	9
1.2.2. <i>Propiedades físicas y químicas</i> .....	9
1.2.3. <i>Usos de la moringa</i> .....	10
1.3. <i>Petiveria alliacea</i> .....	10
1.3.1. <i>Clasificación taxonómica</i> .....	11
1.3.2. <i>Propiedades físicas y químicas</i> .....	11
1.3.3. <i>Usos de la Petiveria</i> .....	12
1.4. Medios de cultivo.....	12
1.4.1. <i>Agar nutriente</i> .....	12
1.4.2. <i>Agar Sabouraud</i> .....	13
1.4.3. <i>Agar MacConkey</i> .....	14
1.4.4. <i>Caldo nutritivo</i> .....	14
1.5. Tinción de Gram.....	15
1.6. Tinción con Azul de Lactofenol.....	16
1.7. Extracción.....	17
1.7.1. <i>Tipos de extractos</i> .....	17
1.7.2. <i>Métodos de extracción</i> .....	18
1.8. Principios activos de las hojas.....	19
1.8.1. <i>Fenoles</i> .....	19

1.8.2.	<i>Flavonoides</i> .....	19
1.9.	<b>Técnicas de inhibición</b> .....	19
1.9.1.	<i>Método del antibiograma disco-placa</i> .....	19
1.9.2.	<i>Método de dilución en agar</i> .....	20
1.10.	<b>Concentración mínima inhibitoria (CMI)</b> .....	20
1.11.	<b>Ventajas y desventajas del uso de extractos vegetales como biocidas</b> .....	21
1.11.1.	<i>Ventajas del uso de extractos vegetales como biocidas</i> .....	21
1.11.2.	<i>Desventajas del uso de extractos vegetales como biocidas</i> .....	21

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	22
2.1.	<b>Localización del estudio</b> .....	22
2.2.	<b>Factores de estudio</b> .....	22
2.2.1.	<i>Población de estudio</i> .....	22
2.3.	<b>Materiales y equipos</b> .....	22
2.4.	<b>Técnicas de recolección de datos</b> .....	24
2.4.1.	<i>Toma de muestras fúngicas y bacterianas</i> .....	24
2.4.2.	<i>Cultivo mixto inicial</i> .....	24
2.4.3.	<i>Aislamiento de bacterias</i> .....	25
2.4.4.	<i>Aislamiento de hongos</i> .....	25
2.4.5.	<i>Codificación de las muestras</i> .....	25
2.4.5.1.	<i>Codificación de muestras bacterianas</i> .....	25
2.4.5.2.	<i>Codificación de muestras fúngicas</i> .....	25
2.4.6.	<i>Elaboración de extractos vegetales</i> .....	26
2.4.7.	<i>Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos</i> .....	27
2.4.8.	<i>Ensayos de inhibición</i> .....	27
2.5.	<b>Diseño del experimento</b> .....	28
2.5.1.	<i>Hipótesis</i> .....	28

## CAPÍTULO III

3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	29
3.1.	<b>Toma de muestras y análisis microbiológico</b> .....	29
3.1.1.	<i>Aislamiento bacteriano</i> .....	30
3.1.2.	<i>Aislamiento fúngico</i> .....	31



3.1.3.	<i>Identificación de plagas</i> .....	31
3.2.	<b>Obtención de extractos</b> .....	33
3.2.1.	<i>Diagramas de flujo del balance de masa</i> .....	35
3.2.1.1.	<i>Diagramas de flujo del balance de masa del extracto etanólico de Moringa oleifera a distintas concentraciones</i> .....	35
3.2.1.2.	<i>Diagramas de flujo del balance de masa del extracto etanólico de Petiveria alliacea a distintas concentraciones</i> .....	36
3.2.2.	<i>Propiedades físicas de los extractos vegetales</i> .....	38
3.3.	<b>Ensayos de inhibición</b> .....	39
3.3.1.	<i>Extracto Moringa oleifera</i> .....	39
3.3.2.	<i>Extracto Petiveria alliacea</i> .....	41
<b>CONCLUSIONES</b> .....		44
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		45
<b>GLOSARIO</b>		
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1.</b> Propiedades físicas y químicas de <i>Moringa oleifera</i> .....	10
<b>Tabla 2-1.</b> Propiedades físicas y químicas de <i>Petiveria alliacea</i> .....	11
<b>Tabla 1-2:</b> Materiales, equipos y reactivos usados para la toma de muestras y análisis microbiológico de las muestras fúngicas y bacterianas de hojas infectadas de <i>Mangifera indica</i> .....	22
<b>Tabla 2-2:</b> Materiales, equipos y reactivos usados para la elaboración de extractos vegetales a partir de hojas de <i>Moringa oleifera</i> y <i>Petiveria alliacea</i> .....	23
<b>Tabla 3-2:</b> Codificación de muestras bacterianas .....	25
<b>Tabla 4-2:</b> Codificación de muestras fúngicas.....	25
<b>Tabla 2-3:</b> Resultados de inhibición obtenidos a distintas concentraciones de extracto de <i>Moringa oleifera</i> .....	39
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados de inhibición obtenidos a distintas concentraciones de extracto de <i>Petiveria alliacea</i> .....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Tinción gram en bacterias gram-negativa y gram-positiva .....	15
<b>Figura 2-1.</b> Etapas del proceso de tinción de Gram sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas .....	16
<b>Figura 3-1.</b> Proceso de tinción con azul de lactofenol .....	16
<b>Figura 4-1.</b> Etapas del proceso de inhibición por el método del antibiograma disco-placa .....	20
<b>Figura 5-1.</b> Método de dilución en agar .....	20
<b>Figura 1-2:</b> Ecuación de la determinación de la humedad.....	27
<b>Figura 1-3.</b> Muestras tomadas con medios de transporte Stuart .....	29
<b>Figura 2-3.</b> Cultivo inicial de muestras tomadas con medios de transporte Stuart en agar nutritivo.....	30
<b>Figura 3-3.</b> Replica 13 de las cepas bacterianas seleccionadas.....	30
<b>Figura 4-3.</b> Replica 3 de las cepas fúngicas seleccionadas .....	31
<b>Figura 6-3.</b> Plagas bacterianas identificadas.....	33
<b>Figura 7-3.</b> Plagas fúngicas identificadas .....	33
<b>Figura 8-3.</b> A: Secado de las hojas de <i>Moringa Oleifera</i> y <i>Petiveria alliacea</i> . B: Molienda de las hojas. C: Empaquetado del polvo de hojas.....	34
<b>Figura 9-3.</b> A: Macerado con etanol al 75%, B: Filtrado al vacío de las muestras maceradas durante 24 horas, C: Proceso de destilación mediante Rotavapor a 35°C.....	35
<b>Figura 10-3.</b> Extractos etanólicos finales. A: Extracto de <i>Moringa Oleifera</i> . B: <i>Petiveria Alliacea</i> . .....	38
<b>Figura 11-3.</b> Ensayos de sensibilidad de plagas fúngicas y bacterianas frente al extracto de <i>Moringa oleifera</i> a concentración 1:5 .....	39
<b>Figura 12-3.</b> Ensayos de sensibilidad de plagas fúngicas frente al extracto de <i>Moringa oleifera</i> a concentración 1:4.....	41
<b>Figura 13-3.</b> Ensayos de sensibilidad positivos de plagas bacterianas frente al extracto de <i>Petiveria alliacea</i> a concentración 1:5 .....	42
<b>Figura 14-3.</b> Ensayos de sensibilidad negativos de plagas fúngicas frente al extracto de <i>Moringa oleifera</i> a concentración 1:5 .....	43
<b>Figura 15-3.</b> Ensayos de sensibilidad negativos de plagas fúngicas frente al extracto de <i>Moringa oleifera</i> a concentración 1:5 .....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos.	27
<b>Gráfico 1-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:5.....	35
<b>Gráfico 2-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:4.....	36
<b>Gráfico 3-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:3.....	36
<b>Gráfico 4-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:5.....	37
<b>Gráfico 5-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:4.....	37
<b>Gráfico 6-3.</b> Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos proporción 1:3.....	38

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A: REGISTRO FOTOGRÁFICO**

## RESUMEN

En la presente investigación se comprobó la actividad fungicida y bactericida del extracto de hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* frente a plagas que afectan a *Mangifera indica*, en condiciones in vitro. El proceso de obtención de los extractos se realizó mediante una maceración con solvente etanólico seguido de una destilación con rotavapor a bajas temperaturas para preservar de mejor manera los principios activos de la planta cuyo producto final fue envasado en frascos ámbar aislados de la luz. Para identificar las plagas del mango, se realizó la toma de muestras con ayuda de medios de transporte Stuart seguido de una siembra y posterior replicación en agar nutritivo en el caso de las bacterias por la técnica de sembrado estriado y agar Sabouraud para los hongos mediante la técnica de sembrado por punción. Se realizó tres distintas concentraciones de extracto variando entre el peso de soluto y el volumen de solvente, siendo agregado al agar por medio del método disco-placa, en la cual el extracto fue agregado a un disco de papel filtro en contacto directo con el agar previamente inoculado con la cepa de interés. Se analizó el diámetro de halo de inhibición en el caso de formarse. Se obtuvo resultados favorables en el caso de la concentración 1:5, la cual formó halos de inhibición en las dos cepas bacterianas de interés. Se recomienda profundizar en los distintos métodos de extracción para así poder determinar cuál es el proceso de obtención de extractos vegetales óptimos para promover el uso de fungicidas y bactericidas de origen orgánico.

**Palabras clave:** <MANGO (*Mangifera indica*)>, <*Moringa oleifera*>, <*Petiveria alliacea*>, <EXTRACTO VEGETAL>, <MICROBIOLOGÍA>, <BIOTECNOLOGÍA>, <BIOCIDA>.

1789-DBRA-UTP-2022



## ABSTRACT

The fungicidal and bactericidal activity of *Moringa oleifera* and *Petiveria alliacea* leaf extracts against pests affecting *Mangifera indica* was tested in this research, this was carried out under in vitro conditions. The process for the extract obtention was carried out by means of maceration with ethanolic solvent followed by distillation with rotavapor at low temperatures to better preserve the active principles of the plant whose final product was packaged in amber bottles isolated from light. To identify mango pests, the samples were taken with the Stuart transport medium, followed by the seeding and its replication on nutrient agar; for bacteria, it was carried out using the streak seeding technique and Sabouraud agar for fungi using the puncture seeding technique. Three different concentrations of extract were obtained changing between the weight of solute and the volume of solvent added to agar by means of the disc-plate method, in which the extract was added to a filter paper disc in direct contact with the agar previously inoculated with the strain of interest. The diameter of the inhibition halo, if formed, was analyzed. Favorable results were obtained for the 1:5 concentration, which formed inhibition halos in the two bacterial strains of interest. It is recommended to expand the different extraction methods in order to determine which is the optimal process to obtain plant extracts and promote the use of organic-origin fungicides and bactericides.

**Keywords:** <MANGO (*Manguifera indica*)>, <*Moringa oleifera*>, <*Petiveria alliacea*>, <VEGETAL EXTRACT>, <MYCROBIOLOGY>, <BIOTECHNOLOGY>, <BIOCIDE>.



Lic. Paúl Rolando Armas Pesántez, Mg.

C.I. 060328987-7

## INTRODUCCIÓN

El árbol del mango es oriundo de la región de la India, aunque se lo cultiva en países de clima cálido o templado. Este ha demostrado ser una planta resistente, ya que no requiere de riego constante y es capaz de soportar incendios. En época de sequía es complicado que en un sembrío de mangos se marchiten debido a que en esta época es cuando existe un mayor crecimiento de biomasa y hay un aumento de la actividad de la fotosíntesis debido a una menor nubosidad (Guerrero 2018, p.9). La llegada de este árbol a América tuvo lugar en el siglo XVIII, gracias a los barcos provenientes de Portugal, los cuales lo introdujeron al actual territorio brasileño. Por otra parte, los españoles contribuyeron a su difusión por América ya que transportaban dichos arboles desde Filipinas hacia Ecuador (Lucero, 2011, p.8).

En Ecuador la producción de mango se dio desde la época de la colonia, como una fruta muy apreciada y apetecida, de tonos amarillos y sabor dulce. Especialmente, la variedad típica de las riberas de los ríos de la costa. En la actualidad, existen sembríos de varias hectáreas de extensión dedicadas a producir las distintas variedades de mango, las cuales son apreciadas en el mercado internacional, teniendo su mayor auge en los meses entre octubre y enero. Según (Guerrero, 2018, p.9), un aproximado de 18.000 hectáreas de la región litoral están dedicadas al cultivo de mango, de las cuales se produce alrededor de 82.246 toneladas del mismo.

Debido a la presencia de plagas como insectos hongos y bacterias, un alto porcentaje del terreno cultivado se ve afectada, siendo tratada comúnmente con productos agroquímicos los cuales alteran la composición del suelo y por ende el medio ambiente, además de ser tóxico para el ser humano. El empleo de productos agroquímicos se ha empleado como principal estrategia para disminuir enfermedades y plagas en plantas o animales en las últimas décadas. No obstante, el uso indiscriminado de los mismos para eludir plagas y así poder evitar pérdidas económicas, ha ocasionado contaminación de los ecosistemas cercanos, erosión del suelo, disminución en la biodiversidad y a su vez genera resistencia en fitopatógenos, afectando de manera indirecta al aplicador y al consumidor de los productos, causando afecciones a la salud de los mismos. Por lo que es impredecible lograr la obtención de productos de toxicidad baja, mínimo costo y a su vez amigables con el medio ambiente. Por lo que se considera fundamental obtener productos de baja toxicidad, de menor costo y eco amigables mediante el aprovechamiento de nuestros recursos naturales gracias al uso de tecnologías alternativas para el control de plagas, disminuyendo progresivamente el uso de pesticidas químicos (García, 2010, p.31).

La efectividad de algunos extractos vegetales como una alternativa al tratamiento de plagas fitopatológicas ha contribuido en la identificación de distintos metabolitos secundarios con actividad fungicida y bactericida. Los distintos efectos de dichos fitoquímicos han llevado a investigar a profundidad sus diferentes efectos sobre las plantas, haciendo énfasis en su interacción ecológica y en el desarrollo de mecanismo de defensas contra plagas. Sin embargo,



varias de los metabolitos secundarios aún no han sido estudiados a profundidad. La zona costera de Ecuador cuenta con una gran variedad de biodiversidad de flora, de las cuales un porcentaje puede ser usado como biocidas; a pesar de ellos, es muy limitado el conocimiento científico que se tiene al respecto ya que en su mayoría aún no han sido validados científicamente (Gañán, 2014, p.15).

En la presente investigación, se evaluará la actividad bactericida y fungicida de dos plantas que son utilizadas comúnmente para tratar diversas afecciones. Las plantas por utilizarse serán *Moringa Oleifera* y *Petiveria Alliacea*.

## JUSTIFICACIÓN

Los plaguicidas y pesticidas químicos actuales son nocivos para la salud del ser humano y contaminan el medio ambiente afectando así a una futura plantación. Varios estudios han demostrado que los componentes de dichos productos usados en la agricultura producen gran variedad de afecciones a las personas como como problemas respiratorios, trastornos de memoria, enfermedades de la piel, depresión, abortos, defectos congénitos, cáncer, padecimientos neurológicos, entre otros (Pacheco et al., 2013, p.2).

Las enfermedades fitopatógenas implican uno de los principales factores que afectan a la sostenibilidad de la producción de mango en zonas tropicales alrededor del mundo. A nivel mundial, se han determinado un aproximado de 400 especies fitopatógenas que se consideran peligrosas para la producción de dicho fruto. A todo esto, se une la situación fitosanitaria de esta especie que se está volviendo más compleja con la expansión del cultivo en nuevas zonas, los cambios en el manejo del cultivo, la renovación varietal o el aumento de las intervenciones químicas (González & Hormaza, 2020, p.1).

Sin duda, la contaminación producida por pesticidas y plaguicidas químicos representa una notable preocupación para el sector agrícola y organismos gubernamentales encargados del control ambiental. Frente a ello, el uso de plaguicidas orgánicos. Frente a ello, el uso de biocidas eficientes como extractos de plantas medicinales de zonas rurales de la costa ecuatoriana, surge como una alternativa promisoriosa para poder controlar el uso de productos químicos en los suelos agrícolas; siendo necesario establecer una estrategia metodológica que evidencie el potencial (Pacheco, 2019, pp.7-8).

El presente estudio busca el desarrollo de un biocida a partir de la mezcla de extractos obtenidos de *Moringa Oleifera* y *Petiveria alliacea*. Para evidenciar la eficacia bactericida y fungicida de dicho producto, se realizarán una serie de análisis microbiológicos en muestras de cultivos obtenidos de plagas presentes en plantaciones de mango. Además, se busca contrarrestar dichas plagas con una alternativa que sea amigable con el medio ambiente sin alterar el hábitat circundante mediante el uso de alternativas verdes con bajos costos de fabricación que reducirán el uso de pesticidas químicos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Comprobar la actividad fungicida y bactericida del extracto de hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* frente a plagas que afectan a *Mangifera indica*, en condiciones in vitro.

### **Objetivos específicos**

- Aislar plagas fúngicas y bacterianas de cultivos de *Manguifera indica* infectados para su posterior purificación e identificación.
- Obtener extractos a partir de las plantas *Moringa Oleifera* y *Petiveria alliacea*.
- Evaluar la actividad inhibitoria de los extractos obtenidos a partir de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* frente a plagas fúngicas y bacterianas.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. *Manguifera indica*

Colonialmente conocida como mango, es una de las frutas tropicales más apetecidas. Es originaria de la región indomalaya y en la actualidad se cultiva en zona tropicales y subtropicales. Los árboles de este fruto se caracterizan por alcanzar hasta 20 metros de altura, con un diámetro de 2,5 metros (Guerrero, 2018, p.13).

Sus hojas son pecioladas, enteras de 15 a 25 centímetros de longitud; generalmente, lanceoladas. Las flores son pequeñas, agrupadas en grandes panículas terminales con 4 o 5 pétalos. Tienen un fruto drupáceo y monospermo; de forma, tamaño y color variable según el cultivo. La pulpa es suave, jugosa y su semilla es aplanada, floreciendo entre los meses de noviembre y febrero. Fructifica casi siempre entre mayo y junio, y alcanza su capacidad productiva a los seis años de haber sido cultivada, extendiéndose por más de 50 años (Garrido, 2007, p.47).

Los frutos del mango comercializados proceden en su mayoría de una hibridación libre o controlada de distintas variedades de orígenes poliembriónicas o monoembriónicas, las cuales comparten características que permiten que los frutos satisfagan las necesidades del mercado (Guerrero, 2018, p.11).

##### 1.1.1. *Importancia económica en el Ecuador*

La región costa del Ecuador, es la zona donde más se ha desarrollado la producción del mango, dado el creciente consumo de dicha fruta en sus distintas variedades y presentaciones, tanto a nivel nacional como internacional. Desde una década atrás, se ha ido posicionando como uno de los productos de mayor exportación, siendo entre los más importantes del Ecuador. La producción mundial se estima alrededor de 17.000.000 toneladas anuales, en el cual el Ecuador ocupa el tercer lugar entre los principales países productores, con un 13% de la producción mundial (Jervis, 2011, p.4).

La mayor producción en el país se encuentra principalmente en las provincias de Guayas y Manabí y en menor proporción entre Los Ríos y El Oro. Mientras que las demás provincias se dedican a otros ámbitos como la elaboración de jugos y concentrado de mango (Guerrero, 2018, p.9).

El sector agrícola representa el 9% del PIB, y la industria agroalimentaria tiene un fuerte crecimiento debido a que está ligada a la población, por lo que el sector comercial a nivel nacional estima las ganancias de producción y venta del mango en \$6.046,6 millones, con una tasa de crecimiento promedio anual de 16% aproximadamente (Lucero, 2011, p.35).

### **1.1.2. Clasificación taxonómica**

La clasificación taxonómica es la siguiente:

**Clase:** *Dicotiledóneas*

**Subclase:** *Arquiclamídeas*

**Orden:** *Sapindales*

**Suborden:** *Anacardinas*

**Familia:** *Anacardiáceas.*

**Género:** *Mangifera*

**Especie:** *Indica* (UNCTAD, 2015, p.3).

### **1.1.3. Problemas fitosanitarios**

Las plagas y enfermedades del sector agrícola, forman parte de uno de los factores que afectan en su gran mayoría a la sostenibilidad de la producción del mango a nivel mundial. Se ha logrado determinar alrededor de 400 especies de plagas que amenazan a la producción del mango a nivel mundial. A todo esto, la situación fitosanitaria se está convirtiendo más compleja debido al aumento del uso de sustancias químicas, expansión de zonas de cultivo y a los cambios de manejo de cultivo (UNCTAD, 2015, p.10).

Entre las principales plagas fitopatológicas que afectan al mango se encuentran:

#### ***Colletotrichum gloeosporioides spp***

Es un hongo patógeno, debido a que causa antracnosis, considerada como la principal enfermedad pre y post- cosecha a nivel mundial, la cual se encuentra relacionado con la época de lluvias, ya que debido a la alta humedad y temperaturas que oscilan entre 24 y 35 °C, causando manchas oscuras y marchitamiento de la hoja, caída de las flores, reducción en el número de frutos o severos daños de la panícula. Mientras tanto, el crecimiento del hongo sobre el fruto después de ser cosechado, causa manchas oscuras irregulares y lesiones en la superficie de este, siendo estas superficiales en un inicio, eventualmente penetrando dentro del fruto dañando la pulpa (Michel, 2000, p.24).

#### ***Oidium mangiferae spp***

También conocido como oídium, ceniza o polvillo, es una enfermedad fúngica causada por un hongo algodonoso, presente en casi todos los cultivos de mango, es considerada una enfermedad esporádica causando pérdidas de hasta el 80% de la producción, atacando hojas, flores, frutos y

brotos. Este hongo afecta a la planta cubriéndola de un polvo blanquecino o gris, causando deformación y caída de los frutos. Se presenta principalmente durante la época de floración y desarrollo de la fruta, en condiciones de humedad elevada y temperaturas bajas (Michel, 2000, p.30).

#### ***Ceratomyces sp. y Erwinia spp***

Conocida como complejo de ceratomyces y erwinica, es considerada una enfermedad fitopatológica muy grave debido a su fácil distribución. Afectando principalmente al tronco y a las ramas, no obstante, también afecta a frutos causando su pudrición interna y muchas veces causando la muerte del árbol. Su diagnóstico temprano es difícil de percibir, sin embargo, en su estado avanzado presenta mangas húmedas de color negro en la superficie del fruto (Michel, 2000, p.28).

#### ***Rosellinia spp***

Este hongo produce una enfermedad conocida como pudrición basal, en la cual ataca directamente a la raíz, introduciéndose al interior de la corteza, presentando un pobre desarrollo, decoloración de las hojas y caída de hojas (Michel, 2000, p.29).

#### ***Botrytis cinerae***

Considerado un patógeno que se presenta en presencia de bajar temperaturas, ocasionando pérdidas en la cosecha de los frutos, transporte y almacenaje. Usualmente conocido por producir pudrición o moho gris en las frutas. También afecta a los pétalos de las flores produciendo marchitez, decaimiento y escamas de bulbos muertos (Matute, 2019, pp28-29.).

#### ***Cladosporium spp***

Es un hongo saprófito de distintos cultivos, produciendo una enfermedad conocida como roña, produce hinchamiento en los frutos, manchas de color marrón oscuro o negro; causando deterioro en su apariencia, provocando la disminución del valor del mismo. De igual manera, este hongo se beneficia de la alta humedad ambiental, causando lesiones en hojas, ramas y flores (Delgado, 2013, p.216).

### ***Alternaria spp***

Las características presentadas por este hongo cuando entra en contacto con los frutos son manchas oscuras, de forma circular con anillos concéntricos de medio centímetro, tornando las zonas infectadas de color amarillo. La infección comienza por las hojas más antiguas y luego sigue infectando a las demás partes del árbol, hasta ocasionar el marchitado y caída de las hojas y flores. Las lesiones iniciales se extienden a los frutos causando abundante putrefacción afectando la calidad y rendimiento de los mismos (Vargas, 2009, p.20).

### ***Cladophialophora spp***

Hongo filamentoso caracterizado por presentar una coloración oscura. Microscópicamente presenta hifas finas, hialinas, septadas y ramificadas con coloración pálida a marrón oscuro y elipsoides, generalmente se presenta en el borde o centro de las hojas de los árboles, causando manchas oscuras de forma irregular. El daño en los frutos son manchas negras de forma variada (Delgado, 2013, p.221).

### ***Xanthomonas spp***

La enfermedad conocida como mancha bacteriana, es causada por bacterias del género *Xanthomonas*, esta enfermedad propaga una serie de lesiones necróticas en la mayoría de partes del árbol como hojas, tallos, flores y frutos. Estas lesiones necróticas ocasionan perforación en hojas, desprendimiento de flores, y aparición de manchas acuosas en tallo y ramas que se extienden a los frutos, afectando la epidermis. Después de 14 días se los síntomas iniciales, las lesiones de agrandan, teniendo forma irregular y de colores más oscuros, deshidratándose y tomando color amarillo verdoso (Montelongo, 2012, p.1).

### ***Pseudomonas spp***

Este género de bacterias produce algunos síntomas típicos en plantas que principalmente se observan en hojas, formando manchas aisladas, de apariencia acuosa de color verde o castaño oscuro generalmente rodeadas de un halo amarillento, las cuales pueden abarcar grandes áreas, aumentando la intensidad de la infección, afectando a los frutos aledaños. Su dispersión se realiza por agua, en época de lluvias o en riego por aspersión y mediante el viento (Slabbinck, 2010, pp.3-4).

## **1.2. *Moringa oleifera***

Planta originaria del Himalayas, introducida a América como especie comestible en el siglo XIX. Perteneciente al género *Moringa*, es una especie arbórea más cultivada de su familia, se distingue por sus hojas pinnadas y vaina larga y leñosa las cuales son ricas en fibra, carbohidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales; lo cual indica que puede ser utilizada como materia prima en distintas industrias como la alimentaria y cosmética. Por causa de las condiciones climáticas y su composición, esta planta se encuentra amenazada por plagas ya sea por insectos (hormigas) o por plagas fúngicas (*Fusarium*), haciendo uso de fertilizantes nitrogenados o biofertilizantes con el fin de ayudar al aumento de biomasa o de incrementar su habilidad de metabolizar distintos nutrientes que ayuden a su crecimiento (Velázquez et al., 2016, p.3).

### **1.2.1. Clasificación taxonómica**

Según (Morales, 2017, p.3), taxonómicamente se clasifica en:

**Reino:** *Plantae*

**Sub-reino:** *Tracheobionta*

**Súper división:** *Spermatophyta*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Subclase:** *Dilleniidae*

**Orden:** *Capparales*

**Familia:** *Moringaceae*

**Género:** *Moringa*

**Especie:** *oleifera*

### **1.2.2. Propiedades físicas y químicas**

Recientes estudios han demostrado las propiedades fitoquímicas que *Moringa oleifera* presenta en su composición, como un alto contenido de proteínas, minerales, aminoácidos y compuestos fenólicos. Los estudios actuales evidencian la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, esteroides y polifenoles presentes en sus hojas, flores y semillas, los cuales se emplean como biopesticidas (Morales, 2017, p.11).



**Tabla 1-1.** Propiedades físicas y químicas de *Moringa oleífera*

<b>Composición</b>	<b>Contenido/100 gramos</b>
<b>Humedad (%)</b>	75
<b>Proteínas (g)</b>	6,7
<b>Carbohidrato (g)</b>	13,4
<b>Fibra (g)</b>	0,9
<b>Minerales (g)</b>	2,3
<b>Calcio (mg)</b>	440
<b>Magnesio (mg)</b>	24
<b>Fosforo (mg)</b>	70
<b>Potasio (mg)</b>	259
<b>Cobre (mg)</b>	1,1
<b>Hierro (mg)</b>	7
<b>Azufre (mg)</b>	137

Fuente: (Benítez, 2016, p.13).

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

### **1.2.3. Usos de la moringa**

Considerada una planta ancestral, cuenta con múltiples usos que ha tomado gran relevancia en los últimos años, ya que prácticamente se usa todo el árbol, lo cual a su vez ha dado lugar a varios estudios de sus beneficios. Entre los principales usos se encuentra el sector alimentario como suplemento nutritivo, infusiones, cremas, entre otras; en el sector de la salud se destacan sus usos como antiparasitario, antimicrobiano y desintoxicante, así mismo se ha comprobado su efectividad como cicatrizante, hipotensor, anti ulceroso, antipasmódico, antiinflamatorio, analgésico y antibiótico (Alarcón et al., 2017, p.5).

Entre sus usos industriales se encuentra la posibilidad de usarlo como fertilizantes, combustible biológico (biogás), agente de limpieza, clarificador de productos edulcorantes comerciales. En cuanto al aceite extraído de la moringa, se usa debido a su potencial alimenticio, a su resistencia a ponerse rancio y sus distintas funciones como lubricante de maquinaria, para la elaboración de jabones, perfumes y también en la industria cosmética (Bonal et al., 2012, p.10).

### **1.3. *Petiveria alliacea***

*Petiveria alliacea* es una planta considerada maleza conocida con diferentes nombres alrededor de países de América y África, conocida en castellano como carricillo silvestre, hierba de las gallinitas, japachumi, rama de zorrillo, zorrillo o zorrillo silvestre; y en regiones de América

Latina llamada frecuentemente anamú, mapurite, hierba de ajo, cola de alacrán, epazote de zorrillo, hierba del arlomo, uña de gato o hierba del zorrillo.

En América, tiene una amplia distribución geográfica que va desde el norte de Florida hasta el sur de Argentina (Sariego, 2013, p. 276). (Ferrer, 2007, p.1) se refiere a esta planta como una hierba perenne, poco ramificado de hasta un metro de alta, hojas de forma elíptica y de 5 a 20cm de largo, con flores color blanco, y un pequeño fruto que presenta ganchos doblados hacia arriba.

### **1.3.1. Clasificación taxonómica**

Según (Ferrer, 2007, p.6), taxonómicamente se clasifica en:

**Reino:** *Plantae*

**Subreino:** *Traqueobionta*

**Superdivisión:** *Spermatophyta*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Subclase:** *Caryophyllidae*

**Orden:** *Caryophyllales*.

**Género:** *Petiveria*

**Especie:** *Allicea*

### **1.3.2. Propiedades físicas y químicas**

**Tabla 2-1.** Propiedades físicas y químicas de *Petiveria alliacea*

<b>Composición</b>	<b>Contenido/100 gramos</b>
<b>Calcio (mg)</b>	17,0
<b>Cobre (mg)</b>	0,16
<b>Hierro (mg)</b>	0,21
<b>Magnesio (mg)</b>	0,78
<b>Manganeso (mg)</b>	0,16
<b>Selenio (mg)</b>	0,02
<b>Zinc (mg)</b>	0,1
<b>Sodio (mg)</b>	0,51
<b>Potasio (mg)</b>	23,83

Fuente: (Ferrer, 2007, p.4).

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

### ***1.3.3. Usos de la Petiveria***

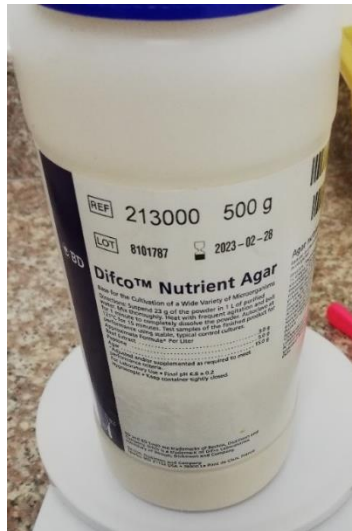
Varios estudios han dado a conocer los distintos usos de esta planta con el fin de demostrar sus distintas propiedades. En la industria farmacológica de la salud, se determinó su potencial analgésico, antihelmíntico, antiinflamatorio, antiespasmódico, afrodisíaco, diurético, expectorante, para el tratamiento de enfermedades como el cáncer, resfriado, fiebre, dolor de cabeza, entre otras varias aplicaciones. Actualmente, se utiliza como medicamento herbolario y se comercializa por varias firmas como suplemento nutricional o como inmunomodulador (Vílchez, 2007, p.23).

## **1.4. Medios de cultivo**

Un medio de cultivo es un entorno, sustrato o solución de nutrientes, el cual permite el crecimiento y difusión de microorganismos en condiciones in vitro, de la misma manera aportando con nutrientes y condiciones fisicoquímicas adecuadas para el desarrollo y el metabolismo de los mismo. De manera general, los medios de cultivo están principalmente compuestos por una fuente de carbono, nitrógeno, en algunos casos sodio, potasio y vitaminas, y por amortiguadores de pH como soluciones tampón o buffer. Estos son usados comúnmente en placas o cajas Petri o a su vez existen medios de cultivo en tubos de ensayo (Rodríguez & Zhurbenko, 2018, p.93).

### ***1.4.1. Agar nutriente***

Medio de cultivo generalmente usado para cultivos iniciales generales, en su mayoría para microorganismos poco exigentes, entre su composición generalmente se encuentra peptona, extracto nutritivo, extracto de levadura, cloruro de sodio y agar: su pH es de  $7.4 \pm 0.2$ . También empleado para la conservación y comprobación de pureza de microorganismos aislados, de igual manera se puede preparar de manera semisólida, para el mantenimiento de microorganismos de interés (Rodríguez & Zhurbenko, 2018, p.99). (Figura 1-1)

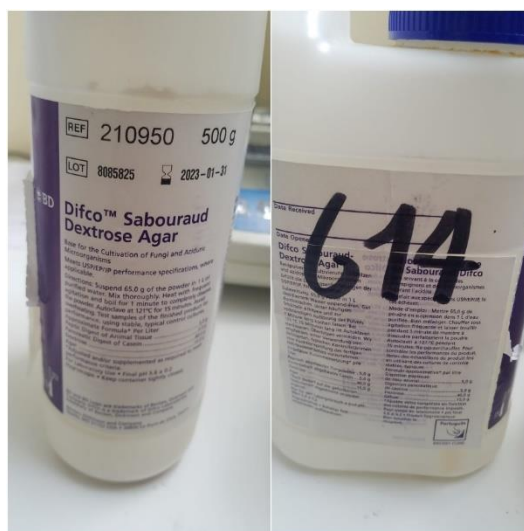


**Figura 1-1.** Agar nutriente Difco

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián. 2022.

#### 1.4.2. Agar Sabouraud

Es un medio de cultivo generalmente usado para el aislamiento e identificación de hongos, el cual contiene antibióticos que inhiben el crecimiento de bacterias que podrían contaminar el cultivo. Este tipo de agar es elaborado principalmente con peptona, glucosa, agar y en algunos casos inhibidores de bacterias de amplio espectro; puede usarse para la preparación de medios enriquecidos como medios con sangre o con vitaminas. Es de pH bajo, debido al resultado favorable para el crecimiento de los hongos de interés inoculados en dicho agar, el cual se encuentra en  $5.6 \pm 0.2$ . (Barrero, 2016, p46). (Figura 2-1)



**Figura 2-1.** Agar Sabouraud Difco

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián. 2022.

### 1.4.3. Agar MacConkey

Medio de cultivo de carácter selectivo, mayormente usado para la detección y aislamiento de bacterias coliformes, microorganismos entéricos y Gramnegativas. Se encuentra compuesto por peptona, proteasa, lactosa, sales biliares, cloruro de sodio, cristal violeta, y agar, de las cuales contiene un indicador de pH rojo neutro para la detección de la degradación de lactosa indicando la presencia de bacterias fermentadoras. Su pH se encuentra en  $7.1 \pm 0.2$ . (Rodríguez & Zhurbenko, 2018, p.61). (Figura 3-1)

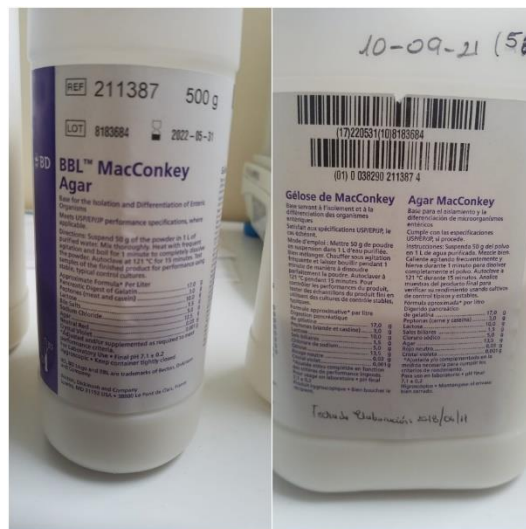
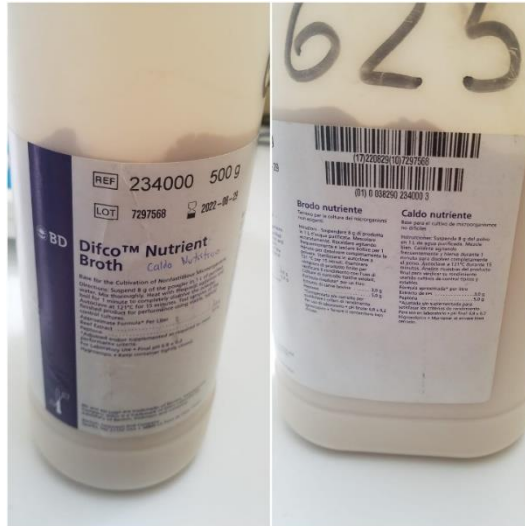


Figura 3-1. Agar MacConkey Difco

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

### 1.4.4. Caldo nutritivo

Medio de cultivo de carácter general diseñado para organismos poco exigentes, en su mayoría enriquecido con carbohidratos, suero, sangre entre otros aditivos, para la activación de bacterias o control de calidad. Compuesto por peptona, extracto nutritivo, extracto de levadura y cloruro de sodio. Tiene un pH básico de  $7.4 \pm 0.2$  (Rodríguez & Zhurbenko, 2018, p.209). (Figura 4-1)

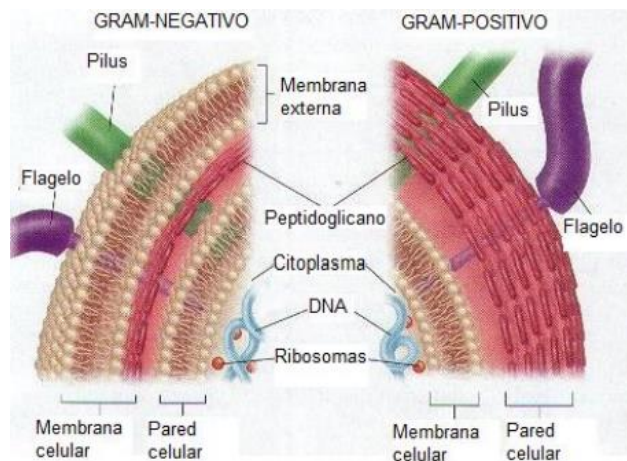


**Figura 4-1.** Caldo nutriente Difco

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián. 2022.

### 1.5. Tinción de Gram

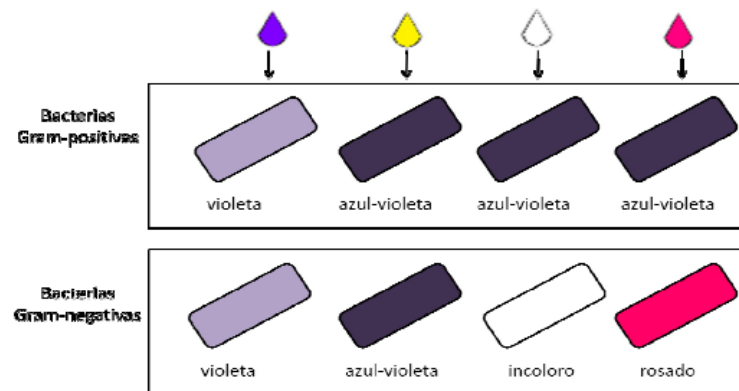
Conocida como coloración o tinción de Gram, creada en 1884 por el Dr. Hans Gram. Es un método que consiste en la identificación de microorganismos a través de una serie de tratamiento con colorantes determinados, clasificándolos en dos grupos: Gram negativos y Gram positivos; basándose en la diferencia de color de las membranas celulares al ser intervenidas con un proceso de tinción, debido a que ciertas bacterias logran retener un colorante complejo como el azul de metilo y el cristal violeta, a la vez siendo expuesto a decolorantes o disolventes como la acetona y el alcohol (Figura 5-1). Las bacterias capaces de retener el complejo son conocidas como Gram-positivas y las que no retienen el complejo se conocen como Gram-negativas (Ducon & Rincón, 2016, p.12-13).



**Figura 5-1.** Tinción gram en bacterias gram-negativa y gram-positiva

**Fuente:** (Ducon & Rincón, 2016, p.13).

En la siguiente ilustración (Figura 6-1), se representa por etapas el proceso de tinción de Gram sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas



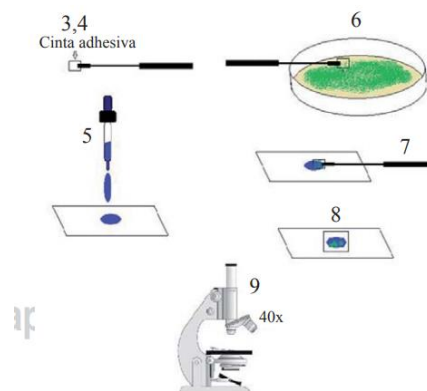
**Figura 6-1.** Etapas del proceso de tinción de Gram sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

Fuente: (Ducon & Rincón, 2016, p.15).

### 1.6. Tinción con Azul de Lactofenol

Considerada un tipo de coloración simple, ya que se hace uso de un solo colorante, el cual tiñe las estructuras celulares del microorganismo de una misma tonalidad (Corrales & Caycedo, 2019, p.82). Es usado para lograr observar los componentes de una muestra fúngica y de esa manera apreciar de mejor manera para una correcta identificación. El mecanismo de función se encuentra en el fenol, el cual inactiva las enzimas líticas impidiendo que estas se rompan, de la misma manera, quita el grado de patogenicidad (López et al., 2013, p.16).

Una vez preparada la muestra y el colorante, se coloca en un porta objeto para su posterior visualización bajo el microscopio x40, como se explica en la Figura 3-1.



**Figura 7-1.** Proceso de tinción con azul de lactofenol.

Fuente: (López et al., 2013, p.16).

## **1.7.Extracción**

Los distintos extractos vegetales se logran obtener mediante procesos químicos, físicos o microbiológicos, que han sido elaborados a partir de material vegetal; beneficiosos en distintos campos como la industria farmacéutica, agropecuaria o la industria química (Amaguaña & Churuchu, 2018, p.12).

Para la producción de los extractos vegetales se debe tener en cuenta los distintos procesos existentes para la extracción de los principios activos de las plantas de interés, para lo cual se necesita de un solvente que dependerá del procedimiento establecido y del principio activo de interés (Carrión & García, 2010, p.27).

### **1.7.1. Tipos de extractos**

- **Extracto Etanólico**

Es un proceso que consiste en la adición de un solvente (alcohol etílico) en un soluto (material vegetal) como hojas, flores, semillas; esta técnica se basa en la extracción de los diferentes principios activos dependiendo de su volatilidad, lo cual permite la extracción de los compuestos volátiles. El solvente se extrae de la solución mediante distintas técnicas como destilación con columna de fraccionamiento o destilación con rotavapor (Amaguaña & Churuchu, 2018, pp.26-27).

- **Aceites esenciales**

Los aceites esenciales se conforman por la fracción volátil de los principios activos de las plantas de interés. Este tipo de extracción se puede realizar mediante distintos métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, fluidos supercríticos o extracción con solventes volátiles. Estos se logran sintetizar de las distintas partes de la planta como flores, hojas, semillas, frutos. Su principio activo se basa en metabolitos secundarios de plantas aromáticas, especialmente terpenoides y varios fenoles aromáticos, éteres, alcoholes, ésteres y cetonas, los cuales determinan las características aromáticas. Sus usos son aprovechados en distintos campos como la industria farmacéutica y de cosmética. Varios estudios han demostrado que este tipo de extracción contiene varios compuestos con propiedades antimicrobianas, antiparasitarias y con actividad medicinal (Ortiz, 2018, p.30).



### **1.7.2. Métodos de extracción**

- **Maceración**

Proceso de separación que consiste en la trituración de material vegetal, como semillas, hojas y tallos con el uso de agua purificada o alcohol. Debido a que algunas plantas son más susceptibles a perder sus principios activos por la presencia de altas temperaturas (Ruiz, 2020, p.2).

- **Destilación**

Operación que consiste en la eliminación de un material mediante la vaporización del mismo con la aplicación de altas temperaturas. Es usado para la separación parcial o total de componentes volátiles de líquidos miscibles. Normalmente, los vapores desprendidos se eliminan en el proceso, en el cual se condensan y recolectan sin retornar al proceso donde se lleva la ebullición de la mezcla inicial (Tituaña, 2013, pp.15-16).

- **Decantación**

Usada para la separación de mezclas heterogéneas que pueden estar constituida por una fase sólida y una líquida, dos sustancias en fase líquida de distinta densidad. En el primer caso, es un proceso común en el cual se extraen los compuestos más pesado antes de pasar a la filtración; en el caso de las sustancias líquidas, este debe cumplir con el requisito de que no se forme una solución, es decir que sean inmiscibles para así mediante el reposo, las dos sustancias puedan ser separadas (Ruiz, 2020, p.2).

- **Filtración**

Proceso usado para separar componentes de un sistema de dos fases, una fase sólida y otra líquida; con el uso de papel filtro, fibras o mallas, las cuales separarán un extracto vegetal de una mezcla previa (Ruiz, 2020, p.2).

- **Evaporación**

Se basa en la separación de compuestos volátiles de una mezcla, mediante la aplicación de calor o corrientes de aire (Ruiz, 2020, p.2).

## **1.8. Principios activos de las hojas**

### ***1.8.1. Fenoles***

Los denominados compuestos fenólicos son aquellas sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o varios grupos hidróxidos. Constituyen un extenso grupo de sustancias químicas con distintas propiedades químicas (Gutiérrez et al 2008, p.1). En conjunto con las vitaminas, dichos compuestos son importantes antioxidantes presentes en frutas, hojas, raíces y cereales. A su vez en plantas, clasificándose en varios tipos de grupos funcionales, ayudando en una serie de funciones metabólicas, en su crecimiento y reproducción, y a su vez los protegen contra el estrés producida por la exposición a radiación UV, de predadores y patógenos externos (Peñarrieta et al., 2014, p.68).

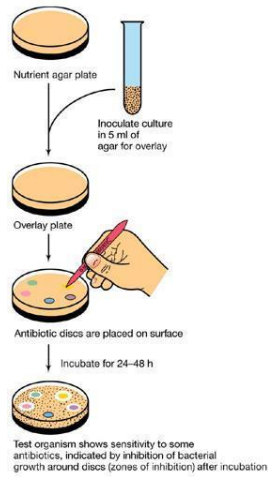
### ***1.8.2. Flavonoides***

Son aquellas estructuras hidroxiladas en un anillo aromático, es decir son polifenólicas. Se consideran un grupo de molecular que son generadas por el metabolismo secundaria de las plantas, a la par de otros principios activos, su origen se da en una ruta biosintética mixta, a través de la ruta del ácido siquímico y la ruta de los poliacéticos. La acción principal de los flavonoides se vincula con la capacidad de minimizar la presencia de radicales libres y metales, impidiendo así sus reacciones catalizadoras. Se les atribuye una acción venotónica, efecto antioxidante, capacidad de inhibir procesos enzimáticos y capacidad de inhibir microorganismos (Martínez, 2002, pp.271-273).

## **1.9. Técnicas de inhibición**

### ***1.9.1. Método del antibiograma disco-placa***

Técnica conocida como Método de Kirby-Bauer, consiste en colocar discos de papel impregnados con el antimicrobiano de interés sobre una placa Petri previamente inoculada con el microorganismo de estudio. Al momento en el que el disco entra en contacto con el agar inoculado, este absorbe agua difundiendo el antimicrobiano en el agar, formándose a partir del disco, un gradiente de concentración. La concentración del microbiano afecta al crecimiento del microorganismo formando halos de inhibición alrededor del disco de papel (Figura 4-1). Este método no es recomendable para la obtención de una lectura correcta del valor de la concentración mínima inhibitoria (Picazo, 2000, p.4).



**Figura 8-1.** Etapas proceso inhibición método antibiograma disco-placa.

Fuente: (Picazo, 2000, p.5).

### 1.9.2. Método de dilución en agar

Este método se basa en la incorporación del antimicrobiano de interés en el agar, añadiéndolo cuando el agar aún se encuentra en estado líquido. Para obtener un correcto rango de dilución, se debe preparar una serie de placas, cada una con una concentración específica del antimicrobiano, inoculando las placas cuando estén solidificadas con el microorganismo de interés (Figura 5-1), con ayuda de un replicador o un hisopo estéril. La lectura de este método se realiza de manera cuantitativa, observando el número de colonias presentes en la caja Petri (Picazo 2000, p.30).



**Figura 9-1.** Método dilución en agar

Fuente: (Picazo, 2000, p.20).

### 1.10. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se denomina concentración mínima inhibitoria o CMI, a la concentración más baja, representada en  $\mu\text{g/mL}$ ; de un antibiótico o agente inhibidor el cual impide el crecimiento de una cepa microbiológica de interés con la finalidad de establecer un método cuantitativo destinado a comprobar la eficacia de dicha sustancia, en la cual dicha información aportará a un correcto

tratamiento, aumentando las probabilidades de éxito para resolver infecciones y ayudar a reducir la resistencia a los antibióticos (IDEXX, 2022, p.1).

## **1.11. Ventajas y desventajas del uso de extractos vegetales como biocidas**

### ***1.11.1. Ventajas del uso de extractos vegetales como biocidas***

- Pueden ser elaborados por agricultores y personas naturales, disminuyendo así el uso de pesticidas comerciales, ayudando a la economía de los mismos.
- Disminuye el riesgo de contaminación, ya que sus componentes son biodegradables de nula o baja toxicidad.
- Debido a su rápida degradación, disminuye el riesgo de dejar residuos en los alimentos cosechados.
- Debido a su rápida inhibición y degradación, ataca selectivamente a las plagas y suelen ser menos agresivos con la microbiota de la planta (Price, 2010, p.25).

### ***1.11.2. Desventajas del uso de extractos vegetales como biocidas***

- El proceso de elaboración requiere tiempo, y algunos de sus elementos son exclusivos de temporadas específicas en el año, por lo que se requiere planificar su obtención.
- Son sensibles a los rayos UV, degradando así su principio activo.
- No son validados por la comunidad científica, específicamente por la falta de investigaciones, dosificación y tiempo de aplicación.
- Su tiempo de almacenamiento es corto (Price, 2010, pp.25-26).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Localización del estudio

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en los laboratorios de Biotecnología y Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2. Factores de estudio

##### 2.2.1. Población de estudio

La población de estudio se encuentra constituido por las muestras fúngicas y bacterianas obtenidas del árbol *Mangifera indica*. Las cuales se aislaron a partir de muestras tomadas de hojas de *Mangifera indica* infectadas, originarias de árboles de la zona urbana de la ciudad de Portoviejo, Manabí.

#### 2.3. Materiales y equipos

**Tabla 1-2:** Materiales, equipos y reactivos usados para la toma de muestras y análisis microbiológico de las muestras fúngicas y bacterianas.

TIPO DE ANÁLISIS	MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
<b>Toma de muestra</b>	Medios de transporte Stuart Cooler Termómetro	Ninguno	Ninguno
<b>Aislamiento de bacterias a partir de hojas infectadas de <i>Manguifera indica</i></b>	Mechero de alcohol Cajas Petri Asa de cultivo Papel aluminio Matraz erlenmeyer Cinta masking	Autoclave Cámara de flujo laminar Incubadora	Agar nutritivo Agua estéril
<b>Caracterización morfológica de bacterias</b>	Cubre y porta objetos Mechero de alcohol Asa de cultivo	Microscopio	Agua estéril Cristal Violeta Lugol

	Cinta Scotch		Acetona Etanol Safranina
<b>Aislamiento de hongos a partir de hojas infectadas de <i>Manguifera indica</i></b>	Mechero de alcohol Cajas Petri Asa de punción Papel aluminio Matraz Erlenmeyer Cinta masking	Autoclave Cámara de flujo laminar Incubadora Reverbero	Agar Sabouraud
<b>Caracterización morfológica de hongos</b>	Cubre y porta objetos Mechero de alcohol Cinta Scotch	Microscopio	Azul de lactofenol.
<b>Ensayos de inhibición</b>	Mechero de alcohol Cajas Petri Asa de cultivo Asa de punción Papel aluminio Vasos de precipitación Matraz Erlenmeyer Hisopos estériles Pinzas Discos de papel estériles Cinta masking	Autoclave Cámara de flujo laminar Incubadora	Extracto alcohólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> y <i>Petiveria alliacea</i>

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

**Tabla 2-2:** Materiales, equipos y reactivos usados para la elaboración de extractos vegetales a partir de hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea*

TIPO DE ANÁLISIS	MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
<b>Recolección de hojas frescas de <i>Moringa oleifera</i> y <i>Petiveria alliacea</i></b>	Fundas aptas para sellado al vacío.	Selladora de vacío. Machete.	Ninguno.
<b>Lavado y secado de hojas de <i>Moringa</i></b>	Colador	Balanza analítica	Agua destilada Detergente

<b>oleifera y Petiveria alliacea</b>	Vasos de precipitación Espátula Varilla de agitación Papel aluminio	Estufa de secado con ventilación a 35°C	Etanol al 70% Solución antioxidante (ácido cítrico y ácido ascórbico)
<b>Molienda de las hojas</b>	Fundas aptas para sellado al vacío.	Licuadaora. Selladora de vacío.	Ninguno.
<b>Macerado y filtrado</b>	Kitasato Embudo Büchner Varilla de agitación Vasos de precipitación de 250 ml Frascos ámbar de 500ml	Balanza analítica Bomba de vacío.	Etanol al 75%
<b>Destilación</b>	Frasco ámbar de 250ml. Papel aluminio.	Destilador rotavapor	Agua destilada.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

## 2.4. Técnicas de recolección de datos

### 2.4.1. Toma de muestras fúngicas y bacterianas

Las muestras fúngicas y bacterias de *Mangifera indica*, se tomaron a partir de árboles ubicados en la parroquia Andrés de Vera de la ciudad de Portoviejo, Manabí. Las muestras fueron tomadas con medios de transporte Stuart, se rotularon y se trasladaron en un cooler con temperatura controlada aproximada de 25°C hasta el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para su posterior análisis microbiológico.

### 2.4.2. Cultivo mixto inicial

Los cultivos mixtos fueron obtenidos de las distintas muestras obtenidas del medio de transporte Stuart. La siembra se llevó a cabo en superficie en agar nutritivo y se incubaron por 48 a 96 horas a 25°C hasta notar presencia de colonias fúngicas y bacterianas.

#### 2.4.3. Aislamiento de bacterias.

Las bacterias fueron aisladas a partir de los cultivos mixtos antes mencionados, usando la técnica de siembra por estriado o agotamiento y se incubaron a una temperatura de 37°C por un lapso de 24 a 48 horas, hasta lograr obtener cultivos puros. A partir de cada aislamiento se seleccionaron colonias con características macroscópicas típicas de las plagas bacterianas comunes en el árbol *Mangifera indica*, a cada colonia se identificó a nivel de género con la ayuda de pruebas de tinción de Gram, oxidasa y catalasa.

#### 2.4.4. Aislamiento de hongos.

Para la obtención de los hongos se procedió a realizar a partir de la identificación de colonias fúngicas en los cultivos mixtos iniciales, se inoculó en medio de cultivo Sabouraud haciendo uso de la técnica de siembra por punción, y se incubó por 7 días a una temperatura de 25°C. A cada aislamiento obtenido se realizó tinción con azul de lactofenol para su caracterización mediante observación microscópica del arreglo que presentan sus estructuras celulares según la colonia.

#### 2.4.5. Codificación de las muestras

##### 2.4.5.1. Codificación de muestras bacterianas

**Tabla 3-2:** Codificación de muestras bacterianas

<b>Tipo de planta</b>	<b>Número de medio de transporte Stuart</b>	<b>Número de muestreo por triplicado</b>	<b>Número de caja seleccionada</b>	<b>Número de colonia seleccionada</b>
M	1	1	1	1

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

##### 2.4.5.2. Codificación de muestras fúngicas

**Tabla 4-2:** Codificación de muestras fúngicas

<b>Tipo de planta</b>	<b>Número de medio de</b>	<b>Número de muestreo</b>	<b>Colonia</b>	<b>Número de colonia</b>	<b>Numero de réplica por triplicado de</b>
-----------------------	---------------------------	---------------------------	----------------	--------------------------	--



	<b>transporte Stuart</b>	<b>por triplicado</b>			<b>la colonia seleccionada</b>
M	1	1	c	1	1

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

#### 2.4.6. *Elaboración de extractos vegetales*

- **Recolecta del material vegetal**

Las hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* fueron recolectadas al azar de ejemplares de las plantas en buen estado, durante los meses de septiembre y octubre del 2021 en el recinto de La Cuesta, cantón Santa Ana, provincia de Manabí, a una altura de 430 m.s.n.m., en el caso de las hojas de *Petiveria alliacea* y en el caso de las hojas de *Moringa oleifera* fueron recolectadas en la parroquia rural Crucita, sector Los Arenales, cantón Portoviejo, provincia de Manabí, a una altura de 5m.s.n.m. Ambos casos con un clima seco y cálido, sin presencia de precipitaciones, a una temperatura ambiente promedio de entre 23 a 28°C.

- **Lavado, secado y molienda del material vegetal**

Las hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* fueron trasladadas hasta el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias-ESPOCH, donde se procedió a lavarlas con detergente FAB<sup>3</sup> durante un máximo de 3 minutos y se procedió a enjuagar con agua destilada 3 veces, después se lavó con solución fungicida y solución antioxidante (ácido cítrico C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> y ácido ascórbico C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) en proporción de 100mg por cada litro de agua. A continuación, se realizó un cuarto lavado con alcohol etílico al 70% durante un máximo de un minuto, y nuevamente se enjuagó con agua destilada 3 veces, hasta lograr retirar todas las sustancias con las que se realizó el lavado con el fin de retirar cualquier impureza que tengan las mismas. El secado del material vegetal se realizó en una estufa con ventilación a una temperatura de entre 30 y 35°C por un máximo de 24 horas o hasta obtener un máximo del 20% de humedad del material vegetal, el cual se determinará con la ecuación 1-2. La molienda del material vegetal se realizó con la ayuda de una licuadora hasta lograr que el mismo se convierta en polvo lo más fino posible y se almacenó al vacío para una mejor conservación.

$$H = \frac{(masa húmeda - masa seca)}{masa seca} \cdot 100$$

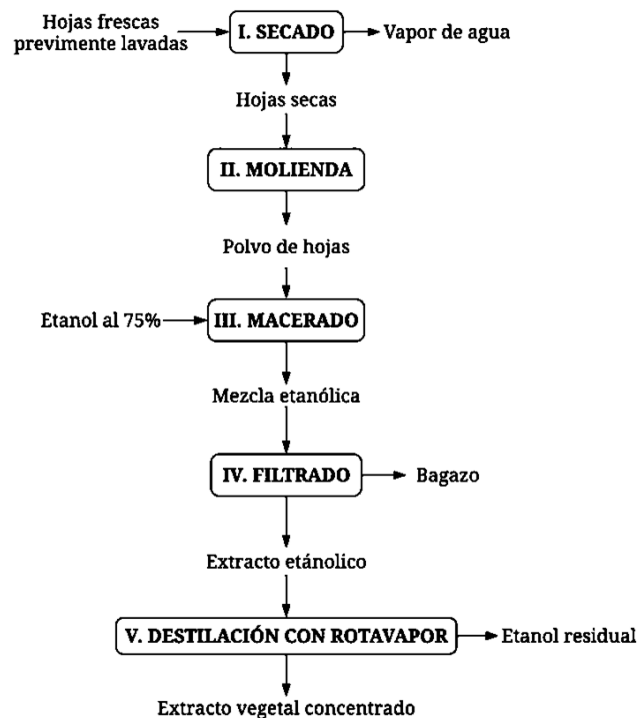
**Figura 1-2:** Ecuación de la determinación de la humedad.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

- **Preparación de los extractos vegetales**

El material previamente secado y molido de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* se maceró en alcohol etílico al 75% v/v, con una proporción de 1:5, 1:4 y 1:3. Envasado en un frasco ámbar de 1L durante un máximo de 24 horas en ausencia de luz. Pasado el tiempo transcurrido se filtra al vacío con papel filtro para separar el material sólido del líquido. Finalmente se llevó al destilador rotavapor a una temperatura de 35°C, para así lograr una destilación por presión y no por temperatura evitando así que se alteren los principios activos de las plantas. Posteriormente se envasó en frascos ámbar debido a la foto sensibilidad de los extractos.

**2.4.7. Diagrama de flujo de balance de masa del proceso de preparación de los extractos**



**Gráfico 1-2.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

**2.4.8. Ensayos de inhibición**

El ensayo de inhibición permite determinar el área de inhibición de los extractos sobre plagas fúngicas y bacterianas del árbol de *Mangifera indica*. Para obtener tal objetivo se llevó a cabo una siembra masiva, a partir de colonias purificadas de las plagas microbianas, se suspendió un hisopo estéril sobre toda la superficie del agar, colocando en el centro de la placa con ayuda de una pinza un disco de papel filtro estéril de 7mm de diámetro con un volumen de cada extracto de 10µL

haciendo uso de una micropipeta y puntas de micropipetas estériles. Se dejó incubar durante 48 horas en el caso de las bacterias a una temperatura de 37°C y durante 7 días en el caso de los hongos a una temperatura de 25°C. Transcurrido el tiempo de incubación, se observó el halo de inhibición formado alrededor del disco de papel filtro y se procedió a medir el mismo con ayuda de un calibre vernier digital para una mayor precisión.

## **2.5. Diseño del experimento**

La experimentación se enfocó en tres fases, la primera fase se centró en la colecta y purificación de muestras fúngicas y bacterianas procedentes de hojas de mango. La segunda fase se enfocó en la realización de los extractos etanólicos de hojas de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea*, desde su recolecta hasta su procesamiento, macerado con etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) al 75% y destilación con rotavapor. En la tercera fase se realizaron los ensayos de inhibición que evaluación ya capacidad bactericida y fungicida de los extractos frente a las plagas microbianas obtenidas en la primera fase.

Se toman como variables independientes a las distintas concentraciones Sólido:Líquido usadas a lo largo del experimento, debido a que son las variables que permiten observar la variación del tamaño del halo de inhibición o su nula formación en los ensayos microbiológicos.

### **2.5.1. Hipótesis**

**Ha:** El uso de extracto de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* influirá en el crecimiento microbiano de bacterias y hongos que afectan a la planta de mango.

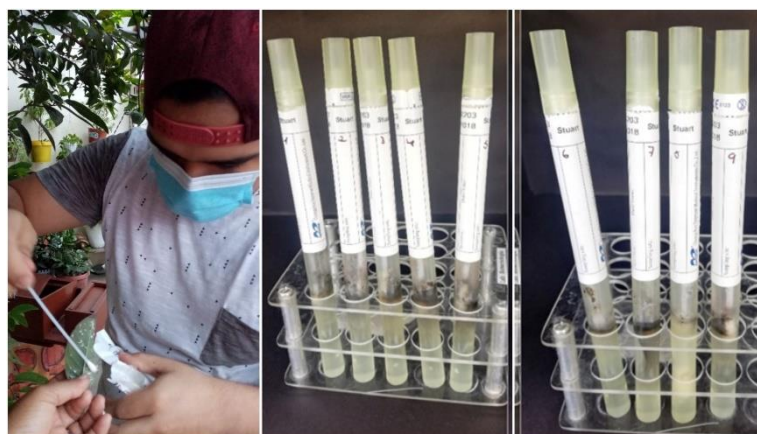
**Ho:** El uso de extracto de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* no influirá en el crecimiento microbiano de bacterias y hongos que afectan a la planta de mango.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Toma de muestras y análisis microbiológico

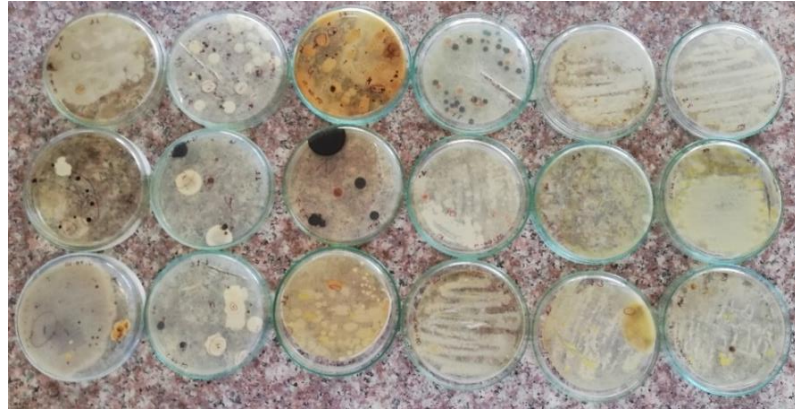
Las muestras iniciales fueron tomadas con medios de transporte Stuart, las cuales se tomaron por triplicado, por lo cual resultó un total de 9 muestras tomadas, como se observa en la Figura 1-3; dichas muestras fueron sembradas en agar inicial para su posterior aislamiento.



**Figura 1-3.** Muestras con medios de transporte Stuart.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

En la Figura 2-3, se puede observar los cultivos mixtos obtenidos a partir de las muestras tomadas con los medios de transporte Stuart, obteniendo como resultado un total de 18 cajas Petri inoculadas, resultantes de realizar la siembra por triplicado, en el que podemos observar tanto cepas bacterianas como fúngicas, las cuales fueron sometidas a análisis para determinar aquellas cepas que se consideren plagas fitopatógenas de interés para este estudio previa a una revisión bibliográfica.



**Figura 2-3.** Cultivo inicial muestras con medio de transporte Stuart en agar nutritivo

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.1.1. *Aislamiento bacteriano*

De los cultivos mixtos iniciales, se seleccionaron 27 bacterias según sus diferencias morfológicas como se puede observar en la Figura 3-3. Posterior a su replique se realizó la respectiva purificación en agar nutritivo mediante la técnica de estriado. Para la obtención de cultivos puros, se realizaron 13 réplicas de cada una de las 27 cepas a analizar.

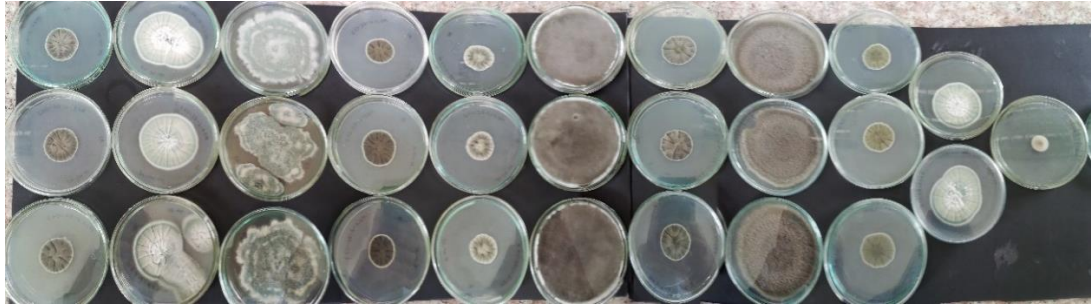


**Figura 3-3.** Replica 13 de las cepas bacterianas seleccionadas.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.1.2. Aislamiento fúngico

Se seleccionaron 13 cepas fúngicas observadas en la primera siembra inoculadas en agar nutritivo, eligiéndolas según sus diferencias morfológicas como se observa en la Figura 4-3. Posteriormente se realizó la respectiva replica mediante la técnica de punción, con el fin de obtener cepas puras, de las cuales se realizaron 3 réplicas.

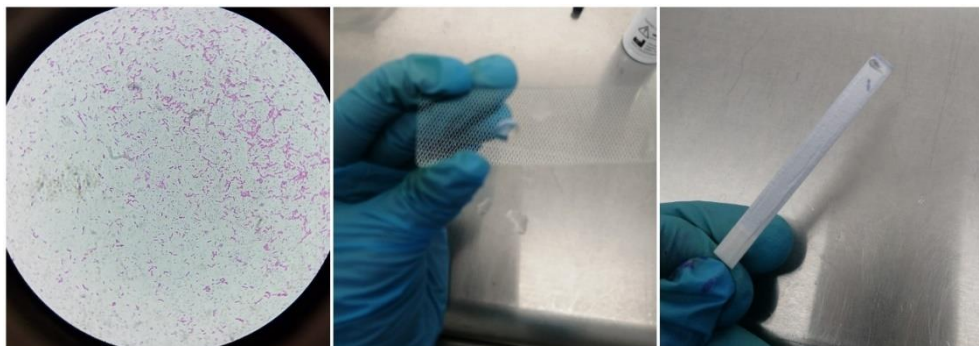


**Figura 4-3.** Replica 3 de las cepas fúngicas seleccionadas.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

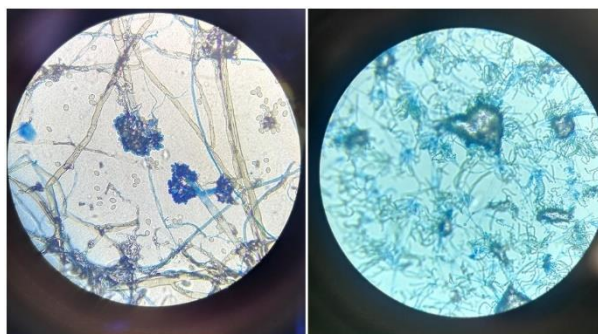
### 3.1.3. Identificación de plagas

Entre las distintas plagas encontradas dentro de las muestras tomadas en *Manguifera indica*, se encontraron las clases de plagas especificadas en la Tabla 1-3. Se identificaron mediante la observación morfológica de las colonias, tinción de Gram en muestras tomadas de las colonias, prueba de oxidasa, prueba de catalasa (en el caso de las muestras bacterianas) como se muestra en la Figura 5-3 y con tinción con azul de lactofenol mostrado en la Figura 6-3 (muestras fúngicas).



**Figura 5-3.** Pruebas bioquímicas realizadas a las cepas bacterianas

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.



**Figura 6-3.** Pruebas bioquímicas realizadas a las cepas fúngicas (tinción con lactofenol)

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

**Tabla 1-3:** Plagas fúngicas y bacterianas obtenidas en los muestreos de *Manguifera indica*

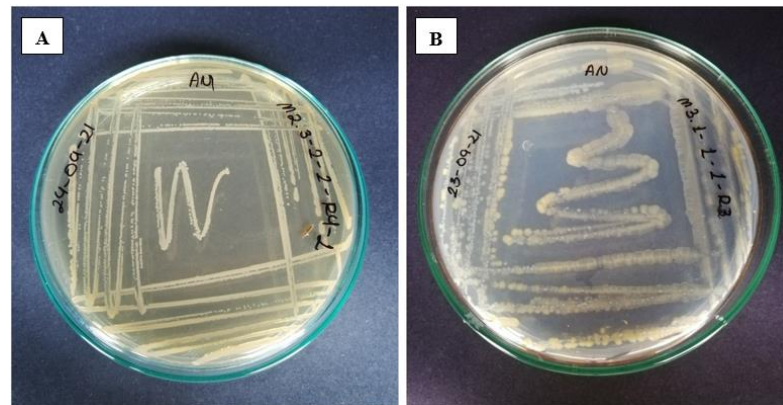
	<b>Código</b>	<b>Nombre del microorganismo</b>
<b>Plagas Bacterianas</b>	M 2.3-2-2	<i>Pseudomonas spp</i>
	M 3.1-1-1	<i>Xanthomonas spp</i>
<b>Plagas Fúngicas</b>	M 2.2-1-C.1.1	<i>Alternaria spp</i>
	M 2.1-2-C.1.2	<i>Cladosporium spp</i>
	M 3.3-1-C.1.2	<i>Cladophialophora spp</i>
	M 1.2-2-C.5.3	<i>Brotrytis cinerae.</i>

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

Las plagas bacterianas obtenidas en el muestreo se identificaron mediante patrones de bacterias, en las que se usó tinción de gran, prueba de oxidasa, prueba de catalasa y la caracterización mediante morfología de las mismas. Se identificaron dos como plagas: *Pseudomonas spp* (M 2.3-2-2). B: *Xanthomonas spp* (M 3.1-1-1) (Figura 7-3). La identificación de las plagas fúngicas se dio a partir de su caracterización morfológica, la cual se determinó según revisión bibliográfica y a su vez se realizó tinción con azul de lactofenol para identificar las estructuras de los hongos a estudiar.

Entre las plagas fúngicas encontradas se encuentran: *Alternaria spp* (M 2.2-1-C.1.1), *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2), *Cladophialophora spp* (M 3.3-1-C.1.2) y *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3) como se observa en la Figura 8-3. Las características expuestas concuerdan a lo descrito por (Lucero 2011, p.18) cual indica que, entre las enfermedades microbianas más importantes del cultivo del mango, debido a su alto índice de daño, se encuentran *Colletotrichum gloeosporioides*, *Brotrytis cinerae*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Cladosporium spp*, *Rhizopus stolonifer L*, *Cladophialophora spp*, *E. coli* y bacterias del género *Pseudomonas*; en el cual

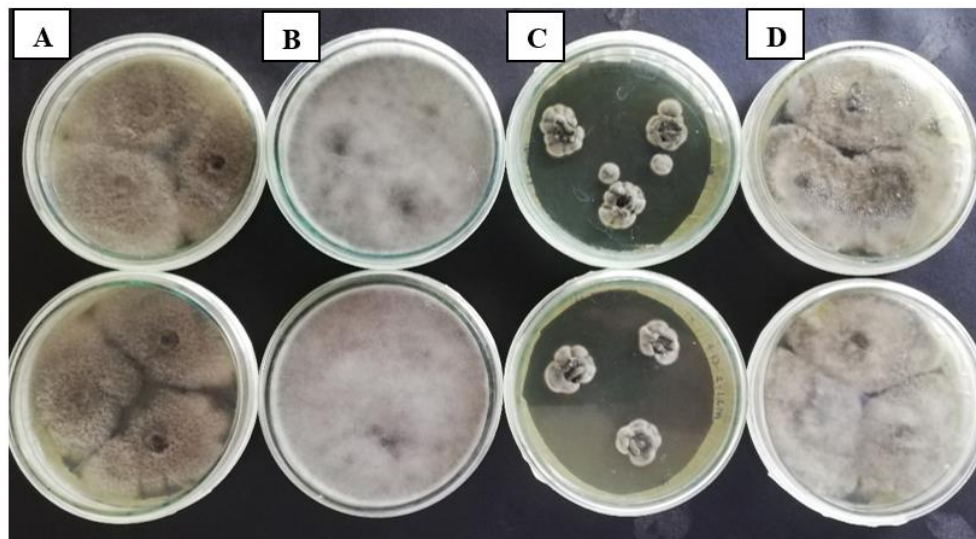
describe el daño en frutos y hojas con la aparición de manchas negras de forma variada, las cuales causan necrosis en los frutos estropeándolos y afectando en su comercialización.



**A:** *Pseudomonas spp* (M 2.3-2-2). **B:** *Xanthomonas spp* (M 3.1-1-1).

**Figura 7-3.** Plagas bacterianas identificadas.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.



**A:** *Alternaria spp* (M 2.2-1-C.1.1), **B:** *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2), **C:** *Cladophialophora spp* (M 3.3-1-C.1.2) y **D:** *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3).

**Figura 8-3.** Plagas fúngicas identificadas.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.2. Obtención de extractos

La obtención de los extractos de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* se realizó mediante una serie de etapas y procesos, partiendo de la recolección de material vegetal fresco como se observa en la Figura 8-3, 202, en el recinto de La Cuesta, cantón Santa Ana en el caso de las hojas de



*Petiveria alliacea* y en la parroquia rural Crucita, sector Los Arenales, cantón Portoviejo, en el caso de las hojas de *Moringa oleífera*, ambas zonas pertenecientes a la provincia de Manabí.



**Figura 8-3.** Recolección de material vegetal.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

En la Figura 10-3, se puede apreciar las distintas etapas iniciales realizadas previa a la obtención del extracto final, inicialmente se realizó el secado del material vegetal en una estufa a temperatura constante de 35°C durante 24 horas o hasta que alcance una humedad constante del 20% (A), seguido de este proceso se procedió a triturar las hojas previamente secadas con ayuda de una licuadora hasta alcanzar un polvo de hojas hasta que se obtuvo un polvo fino (B), seguido a esto se lo almacenó al vacío en fundas aptas para el proceso, con el fin de conservar de mejor manera el polvo de hojas obtenidos (C), para proceder al siguiente proceso obtención de los extractos vegetales.

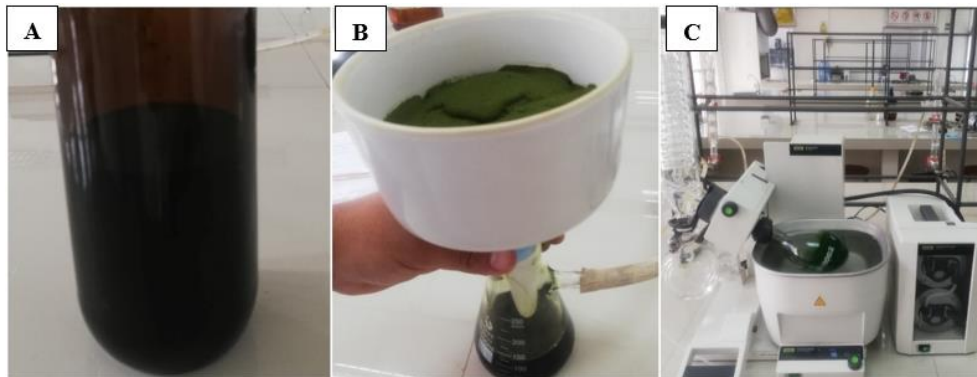


**Figura 10-3.** A: Secado de las hojas de *Moringa Oleífera* y *Petiveria alliacea*. B: Molienda de las hojas. C: Empaquetado del polvo de hojas.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

En la Figura 11-3, se observa el proceso de macerado en alcohol en las proporciones previamente establecidas [1:3], [1:4], [1:5] durante un máximo de 24 horas sin presencia de luz, agitando cada hora durante las primeras 20 horas, dejando reposar la mezcla durante las 4 horas restantes para

que los sólidos suspendidos de la misma se asienten en la base de la botella (A) para así facilitar el siguiente proceso que es el filtrado al vacío para una mayor extracción del alcohol usado en el macerado (B). Por último, se realizó la destilación del alcohol previamente filtrado con ayuda de un rotavapor a 35°C y 115rpm, hasta obtener un extracto concentrado, ya que al trabajar a bajas temperaturas no se alteran los componentes activos de los extractos. (C)



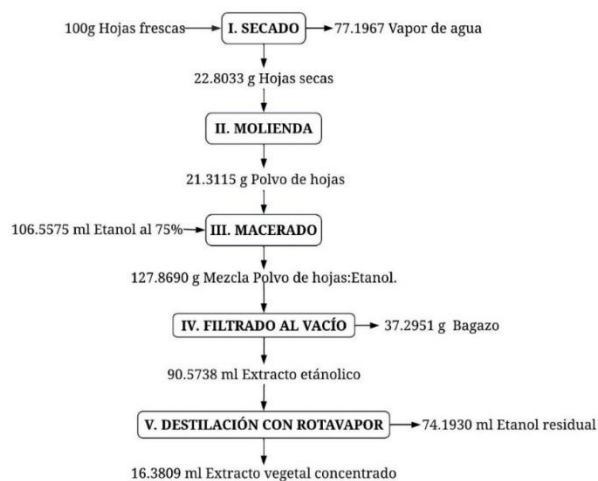
**Figura 11-3.** **A:** Macerado con etanol al 75%, **B:** Filtrado al vacío de muestras maceradas durante 24 horas, **C:** Destilación mediante Rotavapor a 35°C.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.2.1. Diagramas de flujo del balance de masa

#### 3.2.1.1. Diagramas de flujo del balance de masa del extracto etanólico de *Moringa oleifera* a distintas concentraciones

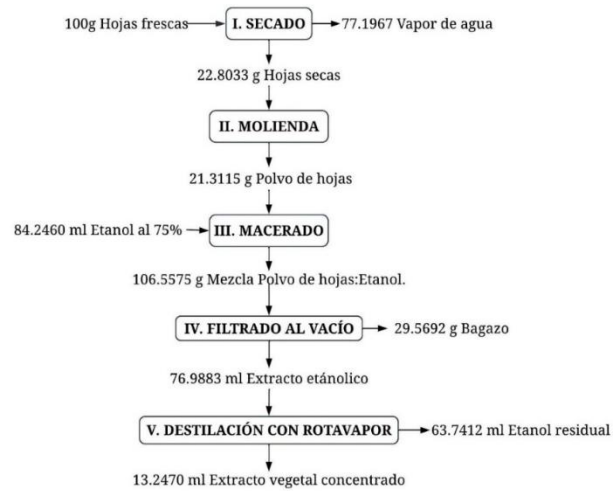
- **Proporción 1:5**



**Gráfico 1-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos proporción 1:5.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

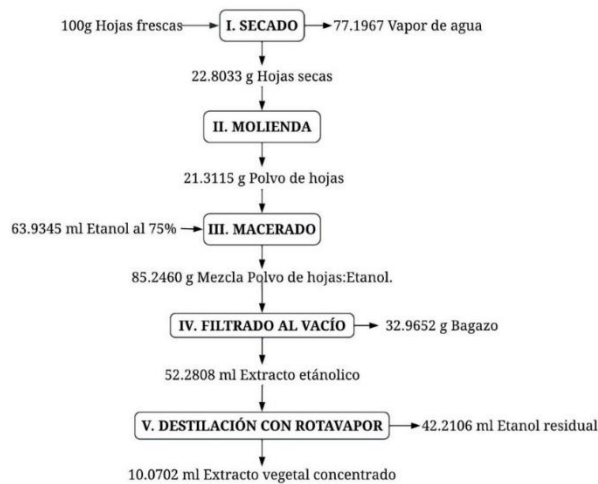
- **Proporción 1:4**



**Gráfico 2-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación extractos proporción 1:4.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

- **Proporción 1:3**

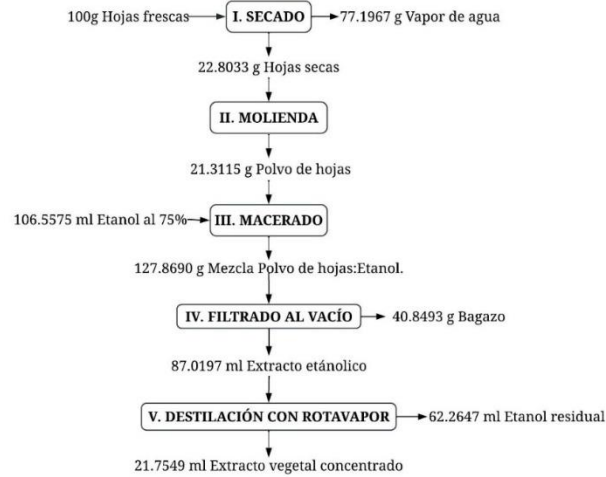


**Gráfico 3-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos proporción 1:3.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

*3.2.1.2. Diagramas de flujo del balance de masa del extracto etanólico de Petiveria alliacea a distintas concentraciones*

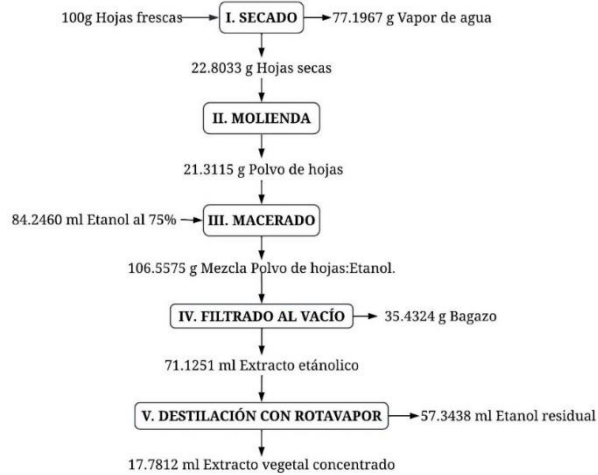
- **Proporción 1:5**



**Gráfico 4-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos proporción 1:5.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

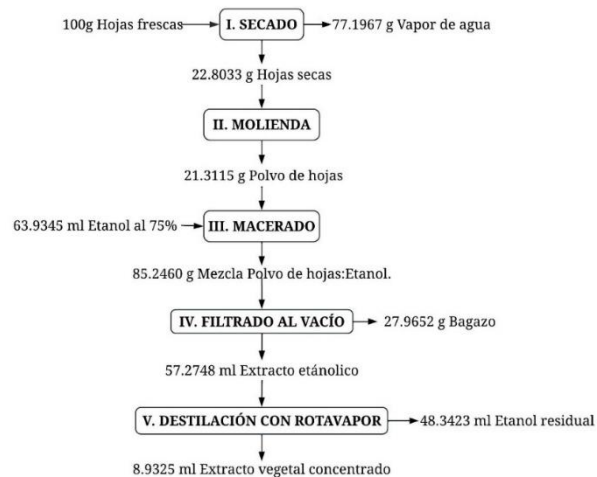
- **Proporción 1:4**



**Gráfico 5-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos proporción 1:4.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

- **Proporción 1:3**

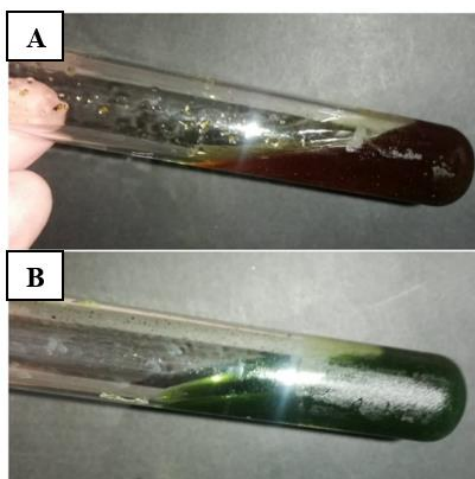


**Gráfico 6-3.** Diagrama balance de masa proceso preparación de extractos proporción 1:3.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.2.2. *Propiedades físicas de los extractos vegetales*

Los extractos etanólicos obtenidos por destilación con rotavapor, presentan un color ámbar oscuro en el caso del extracto de *Moringa Oleifera* (A) con aromas relacionados con las hojas de la misma planta. En el caso del extracto de *Petiveria alliacea* (B) se identifica un color verde oscuro con un olor característico de la planta perceptible a simple contacto, como se aprecia en la Figura 12-3.



**A:** Extracto de *Moringa Oleifera*. **B:** *Petiveria Alliacea*.

**Figura 12-3.** Extractos etanólicos finales.

Realizado por: Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.3. Ensayos de inhibición

Los ensayos de inhibición y sensibilidad ante los extractos de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea*, se realizaron en 3 distintas concentraciones. Los resultados obtenidos de los ensayos de inhibición se detallan a continuación en Tabla 2-3 y Tabla 3-3:

#### 3.3.1. Extracto *Moringa oleifera*

**Tabla 2-3:** Resultados de inhibición a distintas concentraciones de extracto de *Moringa oleifera*

	Muestra (código)	[1:3]	[1:4]	[1:5]
<b>Plagas</b>	<i>Pseudomonas spp</i> (M 2.3-2-2)	-	-	30,7 mm
<b>Bacterias</b>	<i>Xanthomonas spp</i> (M 3.1-1-1)	-	-	42,9 mm
<b>Plagas Fúngicas</b>	<i>Alternaria spp</i> (M 2.2-1-C.1.1)	-	-	-
	<i>Cladosporium spp</i> (M 2.1-2-C.1.2)	-	-	28,5 mm
	<i>Cladophialophora spp</i> (M 3.3-1-C.1.2)	-	-	-
	<i>Brotrytis cinerae.</i> (M 1.2-2-C.5.3)	-	-	>1mm

(-): Inhibición negativa\*

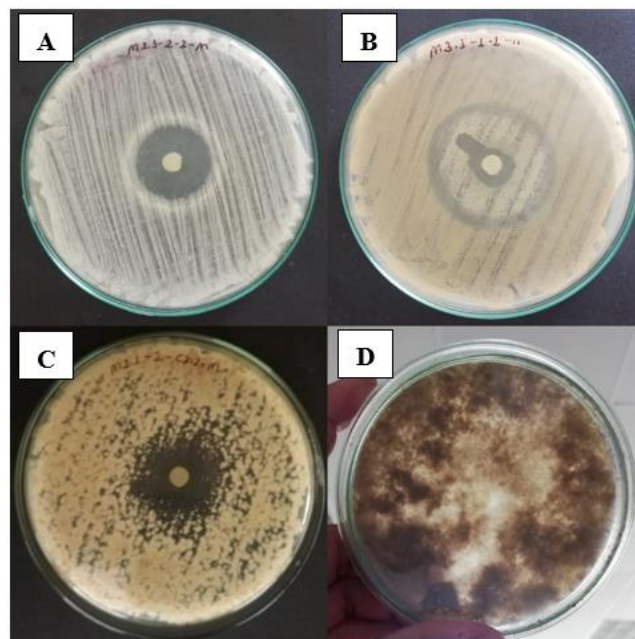
Realizado por: Valdiviezo, Fabián. 2022.

Las cepas microbianas que presentaron sensibilidad ante el extracto de *Moringa oleifera* a una concentración de 1:5 fueron *Pseudomonas spp* (M 2.3-2-2) logrando un halo de inhibición de 30.7 mm, de 42.9 mm en el caso de la cepa *Xanthomonas spp* (M 3.1-1-1) y 28.5 mm en la cepa fúngica *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2). Mientras que la cepa fúngica *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3) presentó un halo de inhibición >1mm ante los principios activos del extracto a la concentración indicada anteriormente (Figura 13-3). Sin embargo, a concentraciones más altas como 1:3 y 1:4, no se pudo observar sensibilidad ante los extractos en ninguna de las muestras observando que las cepas han consumido todo el lugar en la placa, incluyendo los discos que contienen el extracto etanólico de *Moringa oleifera* (Figura 14-3).

Según Mahamadou, A., en su trabajo de investigación en el cual usó extracto acuoso de *Moringa oleifera*, la cepa usado en este estudio *R solani*, no presentó halo de inhibición frente al extracto (Mahamadou, 2014, p.47), mientras que Goun, E y colaboradores, en 2003 realizaron un estudio similar en el cual usaron extractos metanólicos y con clorhidrato de etanol de dicha planta, en el cual, sus resultados expuestos resultaron negativos, debido a que ninguno de los dos extractos pudo inhibir el crecimiento de *E.coli* (Goun et al., 2003, p.74).

No obstante, un estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de semillas de *Moringa oleifera* realizado por Jabeen y colaboradores en 2008, demostró que las cepas *Fusarium solani*, *Bacillus subtilis* y *Staphlococcus aureus* presentaron una sensibilidad alta ante el extracto debido

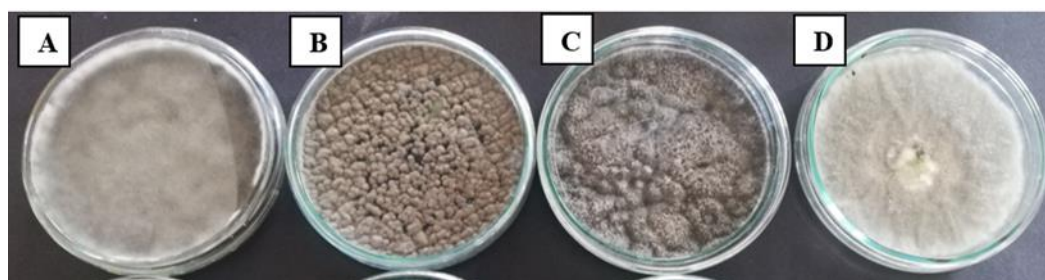
a la presencia de cationes como sodio, potasio o magnesio, mientras que cepas como *Pasturella multocida*, *Aspergillus niger*, *Metarhizium anisoplae* y *Escherichia coli* mostraron menor actividad antagonista y cepas como *Rhizopus solani* y *Pasturella multocida* presentaron una nula actividad inhibitoria frente al extracto (Jabeen et al., 2008, pp. 2-3). Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, se acepta la hipótesis en el caso de la inhibición con bacterias, ya que después de realizar los ensayos de inhibición y análisis de resultados correspondientes sobre las distintas cepas bacterianas, se demostró una actividad inhibitoria significativa a una concentración de [1:5]. En el caso de las cepas fúngicas, se rechaza la hipótesis debido a la baja o nula actividad inhibitoria que presentaron. A pesar de ello, para que el uso del extracto etanólico de hojas de *Moringa oleifera* sea considerado un biocida aceptable para el uso y control de plagas en la agricultura no se descarta el uso de diferentes métodos de extracción con los cuales se pueda conservar y obtener de mejor manera los principios activos de la planta logrando así una posible mejoría en ensayos posteriores.



**A:** *Pseudomonas* spp (M 2.3-2-2), **B:** *Xanthomonas* spp (M 3.1-1-1), **C:** *Cladosporium* spp (M 2.1-2-C.1.2), **D:** *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3).

**Figura 13-3.** Ensayos de sensibilidad plagas fúngicas y bacterianas frente al extracto de *Moringa oleifera* a concentración 1:5.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.



**A:** *Cladophialophora spp* (M 3.3-1-C.1.2), **B:** *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2), **C:** *Alternaria spp* (M 2.2-1-C.1.1), **D:** *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3).

**Figura 14-3.** Ensayos de sensibilidad plagas fúngicas frente al extracto de *Moringa oleifera* a concentración 1:4.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

### 3.3.2. Extracto *Petiveria alliacea*

**Tabla 3-3:** Resultados inhibición a distintas concentraciones de extracto de *Petiveria alliacea*

	Muestra	[1:3]	[1:4]	[1:5]
<b>Plagas Bacterias</b>	<i>Pseudomonas spp</i> (M 2.3-2-2)	-	-	24,7 mm
	<i>Xanthomonas spp</i> (M 3.1-1-1)	-	-	12,2 mm
<b>Plagas Fúngicas</b>	<i>Alternaria spp</i> (M 2.2-1-C.1.1)	-	-	-
	<i>Cladosporium spp</i> (M 2.1-2-C.1.2)	-	-	-
	<i>Cladophialophora spp</i> (M 3.3-1-C.1.2)	-	-	-
	<i>Brotrytis cinerae</i> (M 1.2-2-C.5.3)	-	-	-

(-): Inhibición negativa\*

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

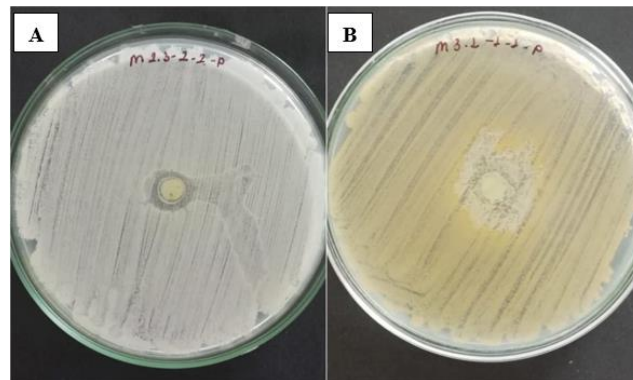
Como se observa en la Figura 15-3, las cepas bacterianas *Pseudomonas spp* (M 2.3-2-2), *Xanthomonas spp* (M 3.1-1-1) presentaron sensibilidad ante el extracto de *Petiveria alliacea* a concentración 1:5, logrando un diámetro en su halo de inhibición de 24.7 mm y 12.2 mm respectivamente, resultados que coinciden con un estudio similar realizado por Pinargote et al (2019), que comprobó que el extracto mostró actividad inhibitoria frente a plagas del café, obteniendo resultados positivos a nivel de laboratorio y campo. Mientras que las cepas fúngicas obtenidas no presentaron sensibilidad ante los extractos (Figura 16-3).

En el caso de las concentraciones mayores, tampoco presentaron presencia de halo de inhibición o sensibilidad frente al extracto de *Petiveria alliacea*, como se puede apreciar en la Figura 17-3. Por lo tanto, de acuerdo con Illnait et al (2010), el extracto etanólico de *Petiveria alliacea* a una concentración del 5% es capaz de inhibir cepas como *C. parapsilosis*, *S. cerevisiae*, *R.*



*mucilaginoso* y *C. grubii*, teniendo un crecimiento nulo a concentraciones mayores. Sin embargo, para cepas como *C. albicans* y *T. asahii* alcanzó su CIM a una concentración mayor de 7,5% o incluso al 10%.

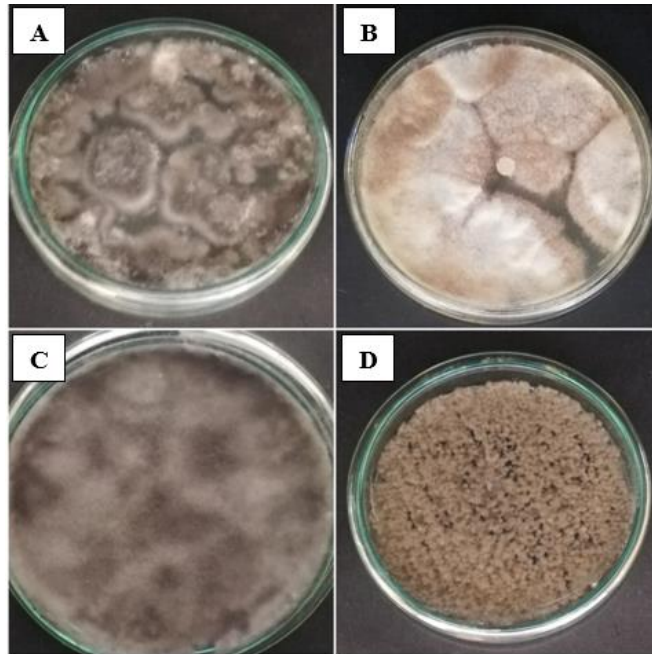
Por otra parte, en un estudio realizado en 2003 en el Instituto de Investigaciones de la Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela se demostró que las cepas de interés presentaron halos turbios o nulos ante extractos acuosos de *Petiveria alliacea*, dando a notar una actividad biocida menor, por otra parte, con el uso de extractos metanólicos presentaron halos de inhibición medios (Lapenna et al., 2003, p.3). Debido a lo descrito anteriormente, se rechaza la hipótesis debido a que no presentó una actividad inhibitoria fuerte frente a las plagas expuestas en ninguna de las concentraciones del estudio. Sin embargo, mediante otros métodos de extracción con distintos solventes, existe la posibilidad de que los resultados sean favorables para el posible uso en agricultura a nivel de campo, haciendo una alternativa más viable tanto económica como ambientalmente.



**A:** *Pseudomonas spp* (M 2.3-2-2), **B:** *Xanthomonas spp* (M 3.1-1-1).

**Figura 15-3.** Ensayos de sensibilidad positivos de plagas bacterianas frente al extracto de *Petiveria alliacea* a concentración 1:5.

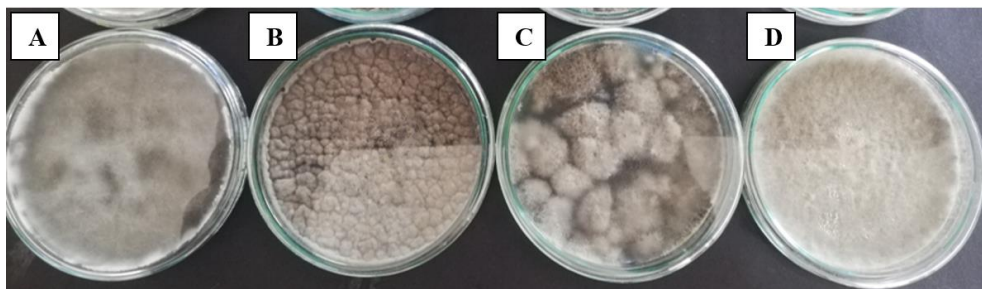
**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.



**A:** *Alternaria spp* (M 2.2-1-C.1.1), **B:** *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3), **C:** *Cladophialophora spp* (M 3.3-1-C.1.2) y **D:** *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2).

**Figura 16-3.** Ensayos de sensibilidad negativos de plagas fúngicas frente al extracto de *Moringa oleifera* a concentración 1:5.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.



**A:** *Cladophialophora spp* (M 3.3-1-C.1.2), **B:** *Brotrytis cinerae* (M 1.2-2-C.5.3), **C:** *Alternaria spp* (M2.2-1-C.1.1), **D:** *Cladosporium spp* (M 2.1-2-C.1.2).

**Figura 17-3.** Ensayos de sensibilidad negativos plagas fúngicas frente al extracto de *Moringa oleifera* a concentración 1:5.

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022.

## CONCLUSIONES

- Se determinó qué, si bien algunos de los extractos etanólicos vegetales provenientes de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* obtenidos mediante el proceso de destilación con rotavapor, presentaron actividad inhibitoria a una concentración más baja como es el caso de la concentración [1:5], en comparación con concentraciones más baja como es el caso de [1:4] y [1:3], en las cuales no presentaron ningún tipo de inhibición ante plagas fúngicas y bacterianas obtenidas del muestreo de árboles de *Mangifera indica*.
- Se aisló cepas en un principio en agar sólido nutritivo a partir de muestras provenientes de árboles de *Manguifera indica* que presentaban plagas, partiendo del primer aislamiento, en el cual la siembra se realizó por estriado en agar nutritivo en el caso de las cepas bacterianas logrando identificar 27 cepas respectivamente, las cuales se replicaron un total de 13 veces hasta obtener cultivos puros, los cuales fueron analizados por medio de patrón de bacterias en el cual incluyó tinción de gram, prueba de catalasa, prueba de oxidasa y morfología de las mismas, en las que se logró detectar 2 cepas bacterianas consideradas plagas, las cuales fueron *Pseudomonas spp* y *Xanthomonas spp*. En el caso de las cepas fúngicas, el aislamiento fue realizado mediante la técnica de siembra por punción, en la cual se logró aislar 16 cepas fúngicas, las cuales se identificaron 2 cepas fúngicas como plagas fitopatógenas, las cuales fueron *Cladophialophora spp*, *Brotrytis cinerae*, *Alternaria spp* y *Cladosporium spp* con ayuda de la prueba con tinción con azul de lactofenol, en ambos casos se realizó investigación bibliográfica previa para identificarlas.
- Se realizó con éxito la extracción etanólico de *Moringa Oleifera* y *Petiveria alliacea* mediante el proceso de macerado y destilación del mismo a partir de hojas secas y etanol al 75%. Dichos extractos se realizaron a distintas concentraciones con el fin de evaluar de mejor manera la actividad inhibitoria, obteniendo un volumen final de entre 16.3 ml, 13.2 ml, 10.0 ml de extracto concentrado de *Moringa oleifera* y 21.7 ml, 17.7 ml, 8.9 ml en el caso del extracto concentrado de *Petiveria alliacea*, cada uno en sus respectivas concentraciones [1:5], [1:4] y [1:3].
- En respuesta a los ensayos inhibitorios de los extractos concentrados de *Moringa oleifera* y *Petiveria alliacea* frente a plagas microbiológicas, las cepas bacterianas presentaron una mayor sensibilidad a ambos extractos; a comparación de las cepas fúngicas en las cuales una de las cuatro cepas (*Cladosporium spp*), presentó sensibilidad ante el extracto de *Moringa oleifera*.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar una correcta desinfección al momento de trabajar en la purificación de las cepas de interés a nivel de laboratorio para así evitar contaminación cruzada que llegara a afectar la investigación.

Se propone profundizar en los distintos métodos de extracción de para así poder determinar cuál es el proceso de obtención de extractos vegetales más óptimo y financieramente más accesible para promover el uso de fungicidas y bactericidas de origen orgánico.

Se sugiere el continuo estudio de distintas plantas con un principio activo similar, de tal manera que se puede corroborar que existe mayor actividad inhibitoria de los mismos con el fin de que exista una gran variedad de biocidas y así apoyar a la reducción del uso de fungicidas y bactericidas de origen químico.

Se recomienda complementar el estudio realizado con ensayos de inhibición a nivel de campo en distintos cultivos con problemas fitopatógenos y en distintas condiciones ambientales, con el fin de establecer concentraciones adecuadas para el uso de estas y obtener resultados favorables.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALARCÓN, et al.,** 2017. *Moringa oleifera: potenciales usos en odontología*. Universidad de Carabobo, Venezuela [en línea], pp. 5. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3759/375953625007/>.
- AMAGUAÑA, F. and CHURUCHUMBI, E.,** 2018. *ESTANDARIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE CALÉNDULA. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA* [en línea]. [Consulta: 23 enero 2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>.
- BARRERO, L.,** 2016. *Microbiología clínica*. [en línea]. [Consulta: 01 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>.
- BENÍTEZ, J., et al.,** 2016. *Moringa oleifera*. [en línea]. [Consulta: 24 abril 2022]. Disponible en: <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2019/04/2016-12-21-Documento-Moringa-oleifera-RSA.pdf>.
- BONAL, R., et al.,** 2012. *Moringa oleifera: una opción saludable para el bienestar*. [en línea]. [Consulta: 22 febrero 2022]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v16n10/san141012.pdf>.
- CARRIÓN, A. and GARCÍA, C.,** 2010. "PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES: DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE METÓDICA. UNIVERSIDAD DE CUENCA [en línea]. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>.
- CORRALES, L. and CAYCEDO, L.,** 2019. Principios físicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología. *Universidad Colegio mayor de Cundinamarca* [en línea]. [Consulta: 29 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v18n33/1794-2470-nova-18-33-73.pdf>.
- DELGADO, C., et al.,** 2013. CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSANTE DE LA ROÑA DEL MARACUYÁ (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEGENER) EN COLOMBIA. *Universidad de Caldas* [en línea]. [Consulta: 04 enero 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v37n143/v37n143a05.pdf>.

- DUCON, V. and RINCÓN, J.,** 2010. MODELADO E IMPLEMENTACIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM. *PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA* [en línea]. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/7011/tesis459.pdf>.
- FERRER, J.,** 2007. PRINCIPALES REFERENCIAS ETNOMÉDICAS SOBRE EL ANAMÚ (*Petiveria alliacea* Linn) Y PRINCIPIOS ACTIVOS ENCONTRADOS EN LA PLANTA. UN ACERCAMIENTO AL TEMA. *Centro Nacional de Investigaciones Científicas* [en línea], pp. 1–6. [Consulta: 20 mayo 2022]. DOI 10.5154/r.rchsh.2015.07.018. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221557010>.
- GAÑAN, N.,** 2014. EXTRACCIÓN Y FRACCIONAMIENTO DE BIOCIDAS DE ORIGEN NATURAL MEDIANTE EL USO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS. *Universidad Nacional Del Sur* [en línea]. [Consulta: 13 febrero 2022]. Disponible en: [https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/532/TESIS\\_Ga%F1an\\_N.2014.pdf;jsessionid=BA9ACB20E9F53E2AFF88DB0E350BE247?sequence=1](https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/532/TESIS_Ga%F1an_N.2014.pdf;jsessionid=BA9ACB20E9F53E2AFF88DB0E350BE247?sequence=1).
- GARCÍA, S.,** 2010. LOS BIOCIDAS: INCIDENCIA NORMATIVA Y SOCIAL: SITUACIÓN EN LA COMUNIDAD DE MADRID. *Departamento De Farmacia Y Tecnología Farmacéutica* [en línea]. [Consulta: 14 enero 2022]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/11971/1/T32548.pdf>.
- GARRIDO, G.,** 2007. (PDF) Mango. *Mangifera indica*. *Centro de química farmacéutica Habana Cuba* [en línea]. [Consulta: 28 mayo 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/236852982\\_Mango\\_Mangifera\\_indica](https://www.researchgate.net/publication/236852982_Mango_Mangifera_indica).
- GONZÁLES, J. and HORMAZA, J.,** 2020. PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL MANGO (*MANGIFERA INDICA* L.). [en línea]. [Consulta: 07 mayo 2022]. Disponible en: [https://www.mango.org/wpcontent/uploads/2020/08/Mango\\_Plagas\\_y\\_Enfermedades\\_SP\\_N.pdf](https://www.mango.org/wpcontent/uploads/2020/08/Mango_Plagas_y_Enfermedades_SP_N.pdf).
- GOUN, E., et al.,** 2003. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. *Fitoterapia*, vol. 74, no. 6, pp. 592–596. ISSN 0367-326X. DOI 10.1016/S0367-326X(03)00117-5.

- GUILLERMO, H.,** 2018. La producción del mango ecuatoriano. *Ide Business School* [en línea]. [Consulta: 06 mayo 2022]. Disponible en: [https://perspectiva.ide.edu.ec/investiga/wp-content/uploads/2018/06/Perspectiva-Junio-2018\\_1-P.pdf](https://perspectiva.ide.edu.ec/investiga/wp-content/uploads/2018/06/Perspectiva-Junio-2018_1-P.pdf).
- GUTIÉRREZ, D., et al.,** 2008. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *Universidad Autónoma de Querétaro* [en línea]. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: [https://www.cenam.mx/simposio2008/sm\\_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf](https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf).
- IDEXX,** 2022. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). [en línea]. [Consulta: 28 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.idexx.es/files/mic-guia-microbiologica-es.pdf>.
- ILLANAIT-ZARAGOZÍ, et al., A.,** 2010. Efecto antifúngico de un extracto de *Petiveria alliacea* L. *Instituto "Pedro Kouri", Cuba* [en línea]. [Consulta: 23 enero 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181221644011.pdf>.
- JABEEN, R., et al.,** 2008. Microscopic evaluation of the antimicrobial activity of seed extracts of *Moringa Oleifera*. [en línea], pp. 2–3. [Consulta: 14 febrero 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/316540425\\_Microscopic\\_evaluation\\_of\\_the\\_antimicrobial\\_activity\\_of\\_seed\\_extracts\\_of\\_Moringa\\_Oleifera](https://www.researchgate.net/publication/316540425_Microscopic_evaluation_of_the_antimicrobial_activity_of_seed_extracts_of_Moringa_Oleifera).
- JERVIS, X.,** 2011. *LA PRODUCCIÓN Y EXPORTACIÓN DEL MANGO Y SUS INCIDENCIAS EN LA ECONOMÍA NACIONAL PERIODO 2005-2010* [en línea]. S.I.: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2150/1/Jervis\\_Panchana\\_Xavier\\_Gastón.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2150/1/Jervis_Panchana_Xavier_Gastón.pdf).
- LAPENNA, E., et al.,** 2003. ACTIVIDAD BACTERICIDA Y FUNGICIDA DE ALGUNAS PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL VENEZOLANA. *Instituto de Investigaciones. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.* [en línea], pp. 3. [Consulta: 23 junio 2022]. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04772003000100002](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772003000100002).
- LÓPEZ, L., et al.,** 2013. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. [en línea]. [Consulta: 09 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf>.

- LUCERO, J.,** 2011. *“La producción, comercialización y exportación del mango en el Ecuador período 2007-2009* [en línea]. S.l.: s.n. [Consulta: 08 junio 2022]. Disponible en: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2184/1/Lucero Jara Olga del Rosario.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2184/1/Lucero%20Jara%20Olga%20del%20Rosario.pdf).
- MAHAMADOU, A.,** 2014. Propiedades fungicida, bactericida y aglutinante de las semillas de *Moringa oleifera* Lam. [en línea]. [Consulta: 28 mayo 2022]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/726/A0058.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- MARTÍNEZ, S., et al.,** 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Universidad de León* [en línea]. [Consulta: 30 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>.
- MATUTE, P.,** 2019. *Control biológico del moho gris (Botrytis cinerea) en cultivos de fresa (fragaria vesca L.) mediante hongos filamentosos antagonistas* [en línea]. S.l.: Universidad Politécnica Salesiana. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18147/1/UPS-CT008620.pdf>.
- MICHEL, R., et al.,** 2000. Cultivo de Mango (*Mangifera indica*). [en línea]. S.l.: [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/63f3e2bc-25af-414b-b2e9-22734840f8e8/content>.
- MONTELONGO, M., et al.,** 2012. Identificación de razas de *Xanthomonas* spp. causantes de la “Mancha Bacteriana” del tomate en Uruguay. *Universidad de la República* [en línea]. [Consulta: 22 junio 2022]. Disponible en: [http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos compartidos/18429181210192603.pdf](http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/18429181210192603.pdf).
- MOPOSITA, D.,** 2017. ANÁLISIS QUÍMICO DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES. [en línea]. [Consulta: 28 mayo 2022]. Disponible en: <http://dica.minec.gob.sv/inventa/attachments/article/2298/tema12.pdf>.
- MORALES, F.,** 2017. EVALUACIÓN DE DOSIS CRECIENTE DEL EXTRACTO DE MORINGA (*MORINGA OLEIFERA*) SOBRE *MYCOSPHAERELLA FIJENSIS*, BAJO CONDICIONES DE CAMPO Y LABORATORIO. *Universidad técnica de Machala* [en línea]. [Consulta: 10 mayo 2022]. Disponible en:



[http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10530/1/DE00004\\_TRABAJODETITULACION.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10530/1/DE00004_TRABAJODETITULACION.pdf).

**ORTIZ, D., 2018.** *Comparación in vitro de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de citronela (cymbopogon nardus) y eucalipto (eucaliptus globulus) frente al agente causal de la antracnosis (colletotrichum gloeosporioides)* [en línea]. S.l.: Universidad politécnica Salesiana. [Consulta: 17 junio 2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16596/1/UPS-CT008049.pdf>.

**PACHECO, A., et al., 2013.** Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Universidad de Oriente* [en línea]. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v44n1/v44n1a7.pdf>.

**PACHECO, M., 2019.** *Inducción de resistencia frente a hongos fitopatógenos por extractos de Moringa en pimiento* [en línea]. S.l.: Universidade Da Caruãa. [Consulta: 28 julio 2022]. Disponible en: [https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/24518/PachecoVacacela\\_MichelleElizabeth\\_TFM\\_2019.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/24518/PachecoVacacela_MichelleElizabeth_TFM_2019.pdf?sequence=2&isAllowed=y).

**PEÑARRIETA, J., et al., 2014.** CLASIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN ALIMENTOS. *Universidad Mayor de San Andrés* [en línea], pp. 68. [Consulta: 28 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>.

**PICAZO, J., 2000.** Procedimientos en Microbiología Clínica. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [en línea]. [Consulta: 23 julio 2022]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.

**PINARGOTE-CHÓEZ, J.D.L.S., et al., 2019.** Efecto de tres dosis de extractos de *Petiveria alliacea* L. y *Azadirachta indica* A. Juss con tres frecuencias de aplicación para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). *Dominio de las Ciencias*, vol. 5, no. 3, pp. 549. DOI 10.23857/DC.V5I3.952.

- PRICE, J., et al.,** 2010. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. [en línea], pp. 25–26. [Consulta: 22 enero 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/as435s/as435s.pdf>.
- RODRÍGUEZ, C. and ZHURBENKO, R.,** 2018. Manual de medios de cultivo. *BIOCEN* [en línea]. [Consulta: 10 julio 2022]. Disponible en: <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>.
- RUIZ, M.,** 2020. Métodos Físicos de Separación-Obtención de Extractos e Hidrodestilación. *Universidad Simón Bolívar* [en línea]. [Consulta: 18 julio 2022]. Disponible en: [https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7991/Guía de Métodos Físicos de Separación\\_Obtención de Extractos e Hidrodestilación.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7991/Guía_de_Métodos_Físicos_de_Separación_Obtención_de_Extractos_e_Hidrodestilación.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- SARIEGO, S., et al.,** 2013. *Petiveria alliacea* L.: distintas condiciones experimentales en la elaboración de extractos con actividad antimicrobiana. *Universidad de Granma* [en línea], pp. 276. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v12n3/sariego.pdf>.
- SLABBINCK, B., et al.,** 2010. Análisis de *Pseudomonas* Fitopatógenas Usando Métodos Inteligentes de Aprendizaje: Un Enfoque General Sobre Taxonomía y Análisis de Ácidos Grasos Dentro del Género *Pseudomonas*. *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea], pp. 3–4. [Consulta: 10 enero 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/612/61214206001.pdf>.
- TITUAÑA, G.,** 2013. *ESTUDIO DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES CULTIVADAS POR LA ASOCIACIÓN FLOR DE CAMPO EN LA ESTANCIA Y MUSHUKWIÑARY EN TAMBALO DE PASA, PARA PROMOVER SU DESARROLLO* [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO. [Consulta: 22 junio 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8563/1/MAI05.pdf>.
- UNCTAD,** 2015. Mango. *UNCTAD* [en línea]. [Consulta: 10 junio 2022]. Disponible en: [https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM\\_cp07\\_Mango\\_es.pdf](https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM_cp07_Mango_es.pdf).
- VARGAS, A.,** 2009. Alternativas naturales para el control de *Alternaria chrysanthemi* Simmons & Crosier. *Centro de investigación científica de Yucatan* [en línea], pp. 20. [Consulta: 28

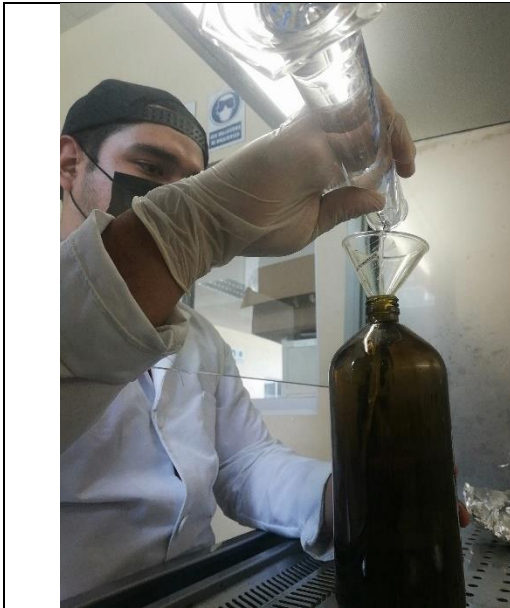
mayo 2022]. Disponible en:  
[https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/397/1/PCBP\\_M\\_Tesis\\_Arely\\_Vargas.pdf](https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/397/1/PCBP_M_Tesis_Arely_Vargas.pdf).

**VELÁZQUEZ, M., et al.**, 2016. Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine. [en línea], pp. 3. [Consulta: 17 julio 2022]. DOI 10.5154/r.rchsh.2015.07.018. Disponible en: [www.chapingo.mx/revistas/horticultura](http://www.chapingo.mx/revistas/horticultura).

**VÍLCHEZ, M.**, 2007. *Estudio preliminar de la utilización del Anamú (Petiveria alliacea) en la reducción del puerperio bovino en la finca El Rosario, municipio de la Trinidad departamento de Esteli* [en línea]. S.l.: Universidad Nacional Agraria. [Consulta: 22 julio 2022]. Disponible en: <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnl73v699.pdf>.

## ANEXOS

### ANEXO A: REGISTRO FOTOGRÁFICO



Preparación de las mezclas hojas:etanol



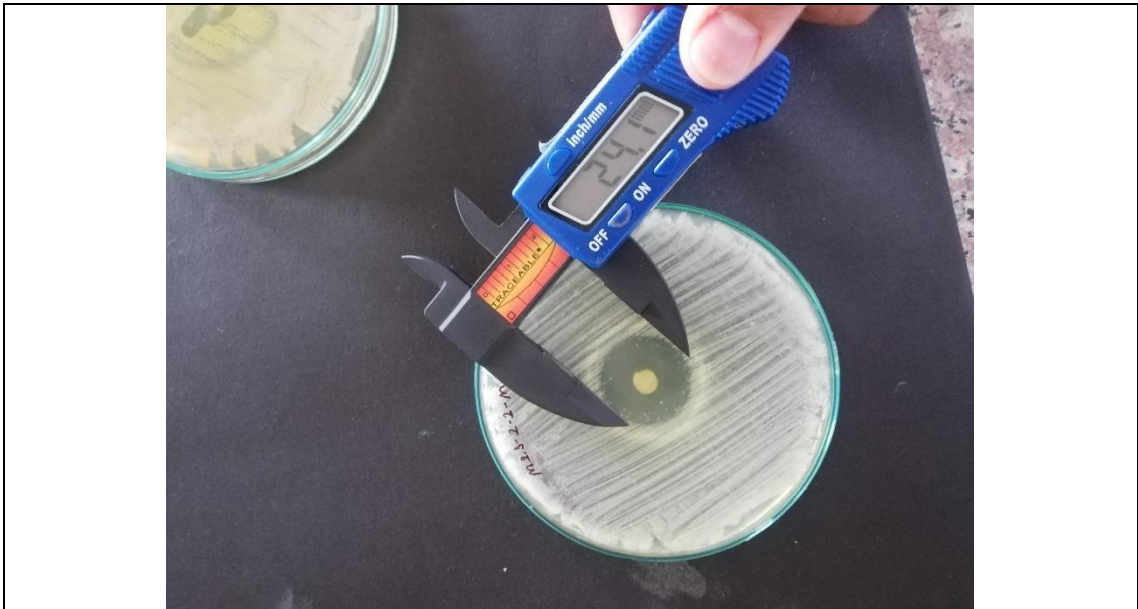
Filtrado al vacío del extracto de *Moringa oleifera*



Envasado y etiquetado de los extractos vegetales



Colocación de los extractos vegetales en los discos de papel filtro.



Medición de los halos de inhibición formados con calibre vernier

**Realizado por:** Valdiviezo, Fabián, 2022



**epoch**

**Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 03 / 10 / 2022

**INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)**

**Nombres – Apellidos:** Fabián Alcides Valdiviezo Rojas

**INFORMACIÓN INSTITUCIONAL**

**Facultad:** Ciencias

**Carrera:** Ingeniería en Biotecnología Ambiental

**Título a optar:** Ingeniero en Biotecnología Ambiental

**f. Analista de Biblioteca responsable:** Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.

1789-DBRA-UTP-2022