UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

TEMA

ANÁLISIS POTENCIAL DEL USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *TECTONA GRANDIS* L. COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA DE PROTECCIÓN CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS DEL SUELO

AUTOR

Freddy Ramiro Velasco Vásquez

DIRECTOR

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez. PhD

PASTAZA-ECUADOR

Febrero 2021

DECLARATORIA Y AUTORÍA DE CESIÓN DE DERECHOS

Quien suscribe, Freddy Ramiro Velasco Vásquez, con C.I: 1501240640, hago constar que soy el autor del Proyecto de Investigación/Trabajo de Integración Curricular titulado: **Análisis Potencial del Uso de Metabolitos Secundarios de *Tectona grandis* L. como Alternativa Ecológica de Protección contra Hongos Fitopatógenos del Suelo**, el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez. PhD. En tal sentido, manifiesto la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusiones dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho trabajo.

En el cantón Pastaza, a los 18 días del mes de febrero del 2021.



Freddy Ramiro Velasco Vásquez

C.I.: 1501240640

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El tribunal de sustentación del proyecto de investigación y desarrollo aprueba el proyecto de Investigación titulado: **Análisis Potencial del Uso de Metabolitos Secundarios de *Tectona grandis* L. como Alternativa Ecológica de Protección contra Hongos Fitopatógenos del Suelo.**

electrónicamente por:
RICARDO VINICIO ABRIL SALTOS

Dr. Ricardo Vinicio Abril Saltos, PhD
Presidente del Tribunal

Firmado electrónicamente por:
KAREL DIEGUEZ

Ing. Karel Diéguez Santana, M.Sc.
Miembro del Tribunal

Firmado electrónicamente por:
YAMILA LAZO PEREZ

Ing. Yamila Lazo Pérez, M.Sc.
Miembro del Tribunal

Certificado No. 38-SAU-UEA-2021

Puyo, 18 de febrero de 2021

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente al estudiante: VELASCO VÁSQUEZ FREDDY RAMIRO con C.I. 1501240640, con el Tema: **"ANÁLISIS POTENCIAL DEL USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE TECTONA GRANDIS L. COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA DE PROTECCIÓN CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS DEL SUELO."**, de la carrera, Ingeniería Ambiental. Director de la investigación Dr.C.Luis Bravo, Phd., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 18 de febrero de 2021 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

ITALO MARCELO

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco M.Sc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Freddy Ramiro Velasco Vásquez, declaro que el presente proyecto de investigación, es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes 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 Integración Curricular.



Freddy Ramiro Velasco Vásquez

C.I.: 1501240640

DEDICATORIA

Al creador de toda la existencia, el que me ha dado esperanza y fortaleza para seguir adelante en esta etapa de mi vida; por ello, con toda la gratitud de mi corazón, dedico en primer lugar mi trabajo a Dios.

De la misma forma, dedico este trabajo a mi querida madre que ha sabido educarme con buenos valores, hábitos y sentimientos, lo cual ha sido un factor determinante para tomar decisiones en todo momento.

A mi padre, que siempre me ha enseñado el valor del estudio y brindado su apoyo incondicional para cumplir todas las metas que me propuse.

Agradezco también el apoyo incondicional de mi novia, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme en todo momento.

A toda mi familia en general, porque me han dado buenos consejos y apoyado en los buenos y malos momentos.

A mis amigos Genaro, Luis y Jaime, por demostrarme que pudimos ser compañeros de trabajo y grandes amigos, gracias a su apoyo, y empeño en el estudio lograron hacer de esta experiencia un de las mejores de mi vida.

Al Dr. Luis Bravo, director de este Trabajo de Titulación, por su constante guía y asesoría responsable durante la realización del mismo.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, expreso mi agradecimiento al director de este Trabajo de Titulación, al Dr. Luis Bravo, por el apoyo y dedicación brindada en este trabajo, por la acogida de mis ideas y sugerencias, por su atención y orientación a mis consultas sobre metodología. Gracias por la confianza y constancia otorgada desde que inicié este trabajo.

También agradezco a mis compañeros y profesores de la Universidad Estatal Amazónica, por su apoyo personal y profesional, con quienes he compartido proyectos, gratas experiencias y alcanzado grandes logros durante estos años.

Sobre todo, gracias a mi familia y novia por el tiempo que me han concedido, por su comprensión y paciencia, porque me han sabido brindar u gran apoyo moral y humano, aún en los momentos más difíciles de este trabajo y durante estos años de estudios de mi profesión.

Gracias a todas las personas que me ayudaron directa o indirectamente en el desarrollo y creación de este trabajo.

RESUMEN

El estudio bibliográfico estuvo encaminado a proponer una técnica asequible para la obtención de extractos acuoso ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. que permita controlar los hongos fitopatógenos del suelo de diferentes sistemas de cultivo. Se destaca la asequibilidad de la técnica de extracción por maceración en frío, para obtener extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios de las hojas de *T. grandis* y también se ofrecen recomendaciones para el uso del producto ecológico en diferentes sistemas de cultivo. Se analizó y compararon las cuatro técnicas más utilizadas para la extracción sólido-líquido de metabolitos secundarios presentes en las hojas de *T. grandis* y se priorizó la que conlleva mayor asequibilidad por sus materiales y equipos. Finalmente se evaluó la técnica de maceración en frío desde un punto de vista técnico, operativo y de asequibilidad que demostró tener más ventajas para el propósito que busca la investigación científica. Los pasos recomendados aseguran una extracción eficaz y el logro de acción antifúngica efectiva del extracto acuoso obtenido de las hojas de *T. grandis* contra los hongos fitopatógenos del suelo en diferentes sistemas de cultivo.

PALABRAS CLAVE: hojas de teca, metabolitos secundarios, antifúngico ecológico

ABSTRACT

The bibliographic study was aimed at proposing an affordable technique for obtaining aqueous extracts rich in secondary metabolites from *Tectona grandis* L. leaves that allows controlling the phytopathogenic fungi in the soil of different cultivation systems. The affordability of the cold maceration extraction technique is highlighted, to obtain aqueous extracts rich in secondary metabolites from *T. grandis* leaves, and recommendations are also offered for the use of the organic product in different cultivation systems. The four most used techniques for the solid-liquid extraction of secondary metabolites present in the leaves of *T. grandis* were analyzed and compared and the one with the greatest affordability was prioritized for its materials and equipment. Finally, the cold maceration technique was evaluated from a technical, operational and affordability point of view, which proved to have more advantages for the purpose sought by scientific research. The recommended steps ensure efficient extraction and the achievement of effective antifungal action of the aqueous extract obtained from the leaves of *T. grandis* against phytopathogenic soil fungi in different cultivation systems.

KEY WORDS: teak leaves, secondary metabolites, ecological antifungal

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I 1

1. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Planteamiento del problema 2

1.2. Objetivo General 2

1.3. Objetivos Específicos 2

1.4. Justificación 2

CAPÍTULO II 4

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN 4

2.1. Alelopatía 4

2.2. Sistemas Alelopáticos 6

2.3. Biosíntesis de Agentes Alelopáticos 9

..... 10

2.4. Naturaleza Química de los Agentes Alelopáticos 10

2.4.1. Lactonas no saturadas. 11

2.4.2. Lípidos y ácidos grasos..... 11

2.4.3. Terpenoides:. 11

2.4.4. Glicósidos cianogénicos. 11

2.4.5. Compuestos aromáticos..... 12

2.4.6. Fenoles simples. 12

2.4.7. Alcaloides..... 13

2.5. Modo de liberación de los agentes alelopáticos..... 13

2.5.1. Volatilización..... 14

2.5.2. Lixiviación 15

2.5.3. Exudados radiculares..... 15

2.5.4. Descomposición de residuos vegetales 15

2.6. Compuestos alifáticos 16

2.7. Metabolitos primarios 16

2.8. Metabolitos secundarios..... 17

2.9. Mecanismos de acción de los agentes alelopáticos 18

2.9.1. Acción indirecta..... 18

2.9.2. Acción directa 18

2.10. Alelopatía sobre hongos fitopatógenos del suelo..... 19

2.11. Características de *Rhizoctonia solani* Kühn..... 20

2.12. Características de *Sclerotium rolfsii* Sacc..... 21

2.13. Descripción Botánica de *Tectona grandis* 22

2.14. Métodos de obtención de extractos vegetales 23

2.14.1. Extracción mecánica 24

2.14.2. Destilación 24

2.14.3. Extracción con fluidos supercríticos 24

2.14.4. Extracción con disolventes 24

2.14.5. Extracción continua o progresiva 24

CAPÍTULO III 29

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 29

3.1. Tipo de investigación 29

3.2. Métodos de la investigación 29

3.3. Análisis de las técnicas más utilizadas a nivel mundial e implementadas en Ecuador y Latinoamérica para la obtención de extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *T. grandis* y sus aplicaciones contra hongos fitopatógenos en sistemas de cultivo 29

3.4. Propuesta de una técnica de extracción por maceración en frío, para la obtención de extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *T.grandis* y aplicable contra hogos fitopatógenos del suelo en diferentes sistemas de cultivo 29

3.5. Evaluación técnica, operativa y de asequibilidad para establecer una aplicación directa de los extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios, flavonoides y taninos del extracto de hojas de *T. grandis* en diferentes sistemas de cultivo 30

CAPÍTULO IV 31

4. RESULTADOS 31

4.1. Materiales necesarios para la extracción por maceración en frío 31

4.1.1. Pasos para la obtención del extracto acuoso a partir de las hojas de T. grandis, mediante la técnica de maceración en frío 31

4.2. Proceso de extracción de metabolitos secundarios de *T. grandis* mediante la técnica de maceración en frío. 32

4.3. Análisis comparativo de ventajas y desventajas de las cuatro técnicas de extracción. 33

4.4. Análisis de los resultados comparativos respecto a las cuatro técnicas de extracción. 36

4.5. Resultados de la matriz FODA en torno a la extracción por maceración en frío y aplicación como producto natural 38

CONCLUSIONES 40

RECOMENDACIONES 40

REFERENCIAS 40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales y equipos para la extracción por maceración en frío..... 31

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las técnicas más utilizadas en extracción sólido-líquido y su asequibilidad. 35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rutas de biosíntesis de aleloquímicos. 10

Figura 2. Vías a través de las cuales se liberan los agentes alelopáticos al entorno 14

Figura 3. Diagrama de bloques para la extracción por maceración en frío..... 33

Figura 4. Matriz FODA entorno a la extracción por maceración en frío y aplicación como producto natural. 38

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día los problemas ambientales son el centro de atención de profesionales y especialistas en varias ramas del conocimiento. La investigación de nuevas opciones ecológicas para garantizar el desarrollo exitoso en sistemas agroforestales o cultivos de interés económico, más que una alternativa asequible, representa una solución para diferentes sistemas de cultivo al momento de combatir los hongos fitopatógenos del suelo.

La aplicación de agroquímicos ha logrado obtener incrementos sustanciales en la producción; no obstante, sus efectos adversos están impactando de manera significativa en la sostenibilidad de la agricultura. La práctica del monocultivo y el uso indiscriminado de productos químicos han reducido la biodiversidad en los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos, la cual se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una mayor incidencia de plagas y enfermedades. Surge así el interés por el control ecológico, definido como: "cualquier forma de control que reduce la incidencia o severidad de la enfermedad, o incrementa la producción del cultivo, aun cuando no haya aparentemente un efecto significativo en la reducción de la enfermedad o inóculo, y su impacto nocivo en el ambiente sea mínimo o nulo" según (Zavaleta 2000) citado en (Ruiz, 2012).

En la naturaleza existe un número significativo de plantas que producen gran diversidad de metabolitos secundarios tóxicos (agentes alelopáticos). Esta característica les permite actuar como antagonistas de patógenos y plagas; potencial que se puede explotar al rotarlas, asociarlas con los cultivos o al incorporar sus residuos al suelo. Otra forma de aprovechar tal antagonismo es mediante la preparación de extractos acuosos a partir de sus tejidos según (Leicach 2005) citado en (Ruiz, 2012).

Actualmente es de gran importancia para los sistemas agroforestales y cultivos de interés económico desarrollar una técnica asequible para obtener extractos acuosos a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. ricos en metabolitos secundarios que permiten reducir o sustituir paulatinamente el uso de agroquímicos para combatir los hongos fitopatógenos del suelo,

aprovechando los beneficios de la naturaleza, restaurando la estabilidad del suelo y su biota de manera natural.

1.1. Planteamiento del problema

¿Cuál sería actualmente la técnica más asequible para la obtención de extractos acuosos a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. ricos en metabolitos secundarios, como alternativa ecológica de protección contra hongos fitopatógenos, para ser considerada como una aplicación directa en el suelo de diferentes sistemas de cultivo?

1.2. Objetivo General

- Proponer una técnica asequible para la obtención de extractos acuoso ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *Tectona grandis* L. que permita controlar los hongos fitopatógenos del suelo de diferentes sistemas de cultivo.

1.3. Objetivos Específicos

- Analizar las técnicas más utilizadas para la obtención de extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios a partir de hojas de *T. grandis,* aplicadas en diferentes sistemas de cultivo, desarrolladas a nivel mundial en la última década e implementadas en Ecuador y Latinoamérica.
- Evaluar la técnica seleccionada desde un punto de vista técnico, operativo y asequible, con vistas a establecer la aplicación práctica de los extractos acuosos de las hojas de *T. grandis* en diferentes sistemas de cultivo.

1.4. Justificación

Esta investigación tiene por objeto respaldar una técnica asequible para la obtención de extractos acuosos a partir de las hojas de *T. grandis* ricos en metabolitos secundarios y aplicables como alternativa ecológica contra hongos fitopatógenos del suelo. Es de gran importancia para los sistemas agroforestales, plantaciones de interés económico y cultivos que requieran control fitosanitario.

Esta investigación ayuda a resolver el problema de hongos fitopatógenos que afectan el desarrollo de cultivos de interés económico y también crea conciencia ambiental para minimizar o sustituir el uso de agroquímicos que alteran y destruyen la biota natural del suelo.

Con la investigación se refuerza y respalda el conocimiento sobre las propiedades alelopáticas que se puede aprovechar de las hojas de *Tectona grandis* L. generalizando los resultados a principios más amplios y ofreciendo la posibilidad de tener una técnica asequible para una exploración fructífera en el control de hogos fitopatógenos.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Alelopatía

El término alelopatía (del griego Allelon = uno al otro, Phatos = sufrir; efecto injurioso del uno sobre el otro) fue utilizado por primera vez en 1937 por Hans Molish para referirse a los efectos beneficiosos o perjudiciales que son, directa o indirectamente el resultado de compuestos químicos que, liberados por la planta, ejercen su acción sobre otro organismo según (Sampietro 2003) citado en (Ruiz, 2012). Este concepto ha sido enriquecido a través de investigaciones y observaciones de numerosos científicos hasta extenderlo a microorganismos como hongos, bacterias y virus, según (Rodríguez et al., 2003; Nelson 2004) citado en (Ruiz, 2012).

Según Alves (1999). Las plantas con propiedades biocidas pueden ser sustitutos naturales de los insecticidas y fungicidas químicos. Entre estas podemos citar la planta forestal teca (*Tectona grandis* L.) la cual tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos del suelo *Rhizoctonia solani* (Kühn) y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) según Espinosa (2008) citado en (Espejo & Espinoza, 2010).

El termino alelopatía, usado inicialmente por el alemán Hans Molisch en 1937, se refiere a las interacciones bioquímicas entre todas las plantas, incluyendo los microorganismos, por la producción de compuestos químicos. Tales interacciones bioquímicas pueden tener acciones inhibitorias o como estimulantes (Rice, 1984). En el proceso ecológico esas interacciones son de gran importancia para los ecosistemas naturales y aquellos que presentan algún tipo de manejo y participan del proceso de sucesión, estructura, composición y dinámica de comunidades vegetales nativas o cultivadas (Maraschin-Silva & Aquila, 2006). Debido al modo de acción de esos compuestos, estos se tornan en una alternativa para ser usados como herbicidas, insecticidas o nematicidas. Waller (1999) considera que los aleloquímicos representan una evolución de las plantas debido a las ventajas de acción que poseen estos compuestas contra microorganismos, virus, insectos, patógenos y depredadores, inhibiendo su efecto y favoreciendo el desarrollo y crecimiento vegetal, según (Giardini & Torres, 2018).

En el mundo hay actualmente registradas 372 especies de plantas espontáneas resistentes a herbicidas (Heap, 2015). De estas especies en el Brasil, por lo menos 18 presentan resistencia, reafirmando que la adopción exclusiva del control químico puede traer consecuencias drásticas Este hecho también deja a la vista la falta de mecanismos alternativos para el control de plantas espontáneas (Rigon *et al.*, 2012) citado en (Alves, 2018).

En los ensayos de comprobación del fenómeno de la alelopatía, llamados bioensayos, es necesario y de gran importancia el control de parámetros como la temperatura y la disponibilidad de agua, para disminuir el número de factores que lo pueden influenciar, permitiendo la investigación sobre la acción de otros mecanismos. En la germinación, la alelopatía puede no actuar exactamente sobre la germinalidad (potencial final de germinación con el transcurrir del tiempo) pero si sobre la velocidad de germinación. Las alteraciones en el patrón de germinación pueden ocurrir debido a la permeabilidad de membranas, a la transcripción y traducción del DNA, al funcionamiento de los mensajeros secundarios, la respiración, la conformación de enzimas, de receptores, o la combinación de estos factores (Ferreira & Aquila, 2000) citado en (Alves, 2018).

Generalmente los efectos de la alelopatía sobre el crecimiento de la plántula son más drásticos en los bioensayos. Cuidados relacionados con la época de cosecha y la concentración del extracto de la planta cuyo efecto será testado, también deben ser tenidos en consideración (Ferreira & Aquila, 2000). En Horticultura el bioensayo germinativo (inhibición o estimulo) es el estudio inicial de los productos secundarios de una planta donadora sobre vegetales receptores. La diversidad de los vegetales implica resultados diferentes en resistencia o tolerancia a los constituyentes químicos que actúan como aleloquímicos, citado en (Alves, 2018).

Un fenómeno que algunas personas desconocen es que los organismos cercanos tienen la capacidad de comunicarse o interaccionar entre ellos mediante compuestos químicos. Esto se denomina como alelopatía, por ejemplo, la relación entre las plantas cercanas entre sí en un huerto. A esto se le conoce como asociación de cultivos y también sirve para el control orgánico de plagas en plantas, según afirma (Deere, 2019).

La definición sencilla de alelopatía es que se trata de un fenómeno biológico en el que un organismo genera compuestos bioquímicos que tienen influencia sobre la supervivencia, crecimiento o reproducción de otros organismos. Estos compuestos pueden representar efectos benéficos (alelopatía positiva) o perjudiciales (alelopatía negativa) para los organismos receptores. Ente estos compuestos se encuentran los compuestos alifáticos como ácidos o alcoholes, lípidos, ácidos grasos, terpenos o compuestos aromáticos. La liberación de los compuestos puede darse en forma volátil, a través de lixiviados o de exudados de sus raíces. El efecto de la alelopatía no es total para bien ni para mal, sino que varía en grados según las características de los organismos implicados (Deere, 2019).

2.2. Sistemas Alelopáticos

Siguiendo el concepto de alelopatía descrito por Molish en 1937, en todo fenómeno alelopático existe una planta donadora que libera al medio ambiente, por una determinada vía (por ejemplo: lixiviación, descomposición de residuos, etc.), compuestos químicos, los cuales al ser incorporados por organismos receptores provoca un efecto perjudicial o beneficioso. Estas sustancias que intervienen en el proceso se denominan compuestos o agentes alelopáticos según (Sampietro 2001) citado en (Ruiz, 2012).

El estudio de los mecanismos mediante los cuales las plantas pueden interaccionar con su entorno es muy complejo, debido principalmente a la gran diversidad de estrategias que estas utilizan para tal fin. Las plantas en si aprovechan todos sus órganos constitutivos para activar estos mecanismos y transmitir información a su entorno, siendo estos específicos para cada órgano, y estos a su vez, son los que definirán el tipo de información transmitida. Así, los mecanismos que pueden ser activados en los órganos reproductivos, como la emisión de compuestos volátiles, pueden ser muy diferentes a aquellos activados o acumulados en la raíz, órgano de la planta encargado de la absorción de los requerimientos nutricionales esenciales para el crecimiento, y el que se encuentra en contactos directo con el suelo, soporte de la población biótica y algunos factores abióticos del ambiente donde la planta se desarrolla según lo afirma Macías & Carrera (2009).

Todos estos mecanismos han sido perfeccionados evolutivamente, y como característica heredada de la planta, su desarrollo y manifestación no sigue un plan prediseñado, y por el contrario, el mismo se encuentra siempre sujeto a constantes modificaciones que se expresan en una plasticidad adaptativa como consecuencia de su interacción con su medio ambiente. Es esta propiedad la que le ha conferida a las plantas una alta capacidad de adaptarse y soportar las más diversas condiciones, no solo de tipo física, sino a las generadas por agentes bióticos. En términos generales, los mecanismos de interacción de las plantas con su entorno, aplicados para lograr su supervivencia como objetivo fundamental, pueden ser divididos en dos grandes grupos según su naturaleza. Un primer grupo está representado por aquellos mecanismos de tipo físico y de arquitectura de la planta, donde pueden incluirse características de velocidad de crecimiento, rasgos anatómicos de la hoja y el tallo, dormancia a largo tiempo y condiciones de sus cariópsides, mecanismo de reproducción, modos duales de reproducción, plasticidad ambiental, resistencia a condiciones adversas, la germinación no requiere condiciones especiales, rápida reposición de órganos perdidos, capacidad de desarrollar resistencia frente a medidas de control, alta capacidad de competencia, entre otras propiedades según lo afirma Macías & Carrera (2009).

En estos mecanismos, considerados mucho más activos desde el punto de vista fisiológico, la planta invierte una cantidad importante de su capacidad metabólica en sintetizar transmisores de información, muchas veces metabolizados en altas concentraciones en períodos cortos de tiempo, sacrificando energía y fijación de carbono, en detrimento de otras funciones vitales de la planta, como su crecimiento según lo afirma Macías & Carrera (2009).

Estos mecanismos son pasivos desde el punto de vista de respuesta al estrés, pues los mismos han sido adquirido y perpetuados evolutivamente, y representan rasgos que le son característicos a las plantas, y difícilmente serán modificados una vez que las plantas se adapten a unas determinadas condiciones. El segundo grupo lo constituyen aquellos mecanismos de tipo químico, donde la manifestación en cada uno de los procesos involucrados lo representa los compuestos químicos, generalmente metabolitos secundarios, encargados de transportar la información que en ese momento es vital para la supervivencia

de la planta, como lo representan aquellos liberados mediante exudado de raíz según lo afirma Macías & Carrera (2009).

Al contrario de los mecanismos de tipo físicos, los químicos si son susceptibles de ser modificados con cambios del entorno de la planta, en periodos de tiempo dentro de su ciclo de vida, los cuales representan un sistema adaptativo muy eficaz, con una rápida respuesta a las modificaciones o fluctuaciones de su entorno. Sin embargo, para que los mecanismos mediados por agentes químicos sean efectivos, no solo es necesaria su biosíntesis y acumulación por parte de la planta, si no que dicho mecanismo tiene que contener un operador que indique las rutas mediante las cuales este metabolito sintetizado pueda ser liberado al ambiente, donde la información que lleve consigo pueda ser insertada en las interrelaciones del nicho ecológico donde la planta se encuentra según lo afirma Macías & Carrera (2009).

De esta manera, el mecanismo no solo contiene la información necesaria para su metabolización, sino que al mismo tiempo active procesos fisiológicos para su excreción de una manera activa y efectiva, de tal manera que sea capaz de transmitir la información en el lugar, momento y tiempo adecuados. El estudio de todos los diferentes mecanismos de intersección en un ecosistema dado es fundamental para entender los fenómenos de asociación existentes entre plantas, que de alguna manera regulan sus patrones poblacionales observados. Muchos de estos mecanismos frecuentemente operan simultáneamente. Así, las estrategias de crecimiento están sincronizadas con la excreción de sustancias hacia el medio. Su acción conjunta, contribuye a definir los patrones poblacionales observados macroscópicamente, como el dominio de una especie en un espacio bajo determinadas condiciones. Cuando diferentes mecanismos están actuando simultáneamente, suele definirse al fenómeno total como interferencia entre especies, sin embargo, cuando los fenómenos están relacionados sólo con la intermediación negativa de compuestos químicos liberados el fenómeno se ha denominado alelopáticos, y a los metabolitos secundarios que son responsables de los efectos son denominados aleloquímicos. De esta manera, la interferencia comprende los mecanismos de competencia física y de alelopatía simultáneamente según lo afirma Macías & Carrera (2009).

2.3. Biosíntesis de Agentes Alelopáticos

Muchos agentes alelopáticos son sintetizados y almacenados en diferentes células de la planta ya sea en forma libre o conjugada con otras moléculas y se liberan al entorno en respuesta a diferentes situaciones de estrés biótico o abiótico. La mayoría de estos agentes son metabolitos secundarios provenientes de la ruta del Acetato-Mevalonato del Ácido Shikímico como lo afirma (Bansal 1994 & Voet et al., 2005) citado en (Ruiz, 2012).

La mayoría de los agentes alelopáticos son metabolitos secundarios derivados de las rutas del acetato-mevalonato o del ácido shikímico. Provienen de la ruta metabólica del acetato-mevalonato terpenos, esteroides, ácidos orgánicos solubles en agua, alcoholes de cadena lineal, aldehídos alifáticos, cetonas, ácidos grasos insaturados simples, ácidos grasos de cadena larga, poliacetilenos, naftoquinonas, antroquinonas, quinonas complejas y floroglucinol. Provienen de la vía metabólica del shikímico fenoles simples, el ácido benzoico y sus derivados, el ácido cinámico y sus derivados, cumarinas, sulfuros, glicósidos, alcaloides, cianhidrinas, algunos de los derivados de quinonas y taninos hidrolizables y condensados. Existen también compuestos (p. ej. los flavonoides) en cuya síntesis participan metabolitos de las dos rutas. Como es previsible, las concentraciones de estos compuestos en los tejidos varían según el ritmo de biosíntesis, almacenamiento y degradación. También son afectados por los balances internos de reguladores de crecimiento vegetal y otros factores bióticos y abióticos. Es importante tener presente que no siempre los detalles de la biosíntesis de estos compuestos son conocidos afirma (Sampietro, 2003). Ver figura 1.

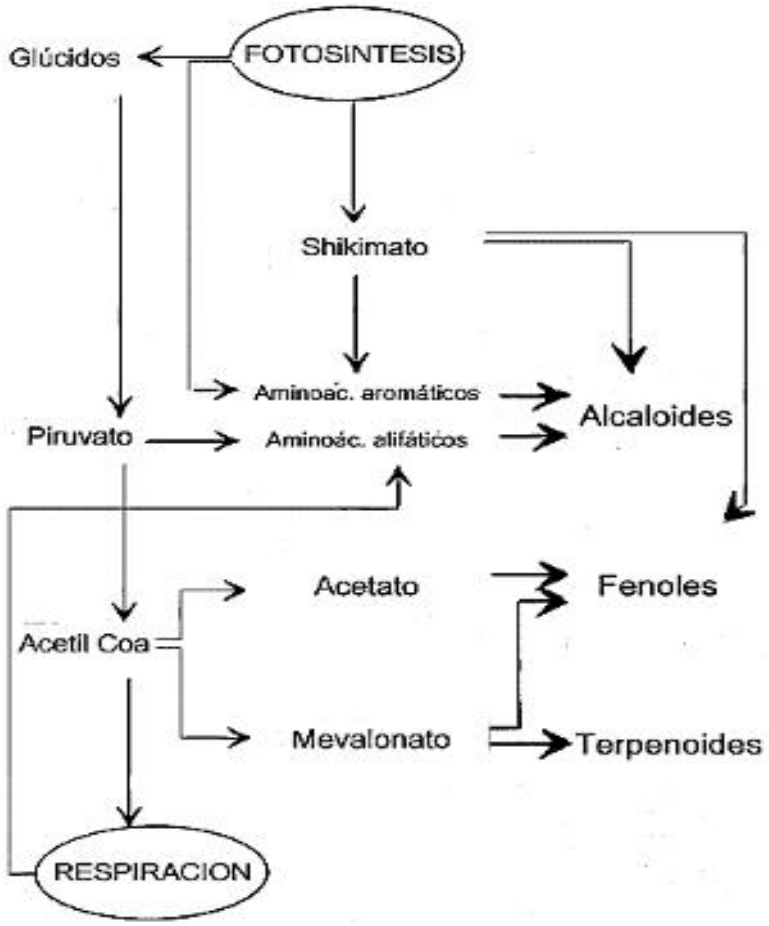

Figura 1. Rutas de biosíntesis de aleloquímicos.

Obtenido de (Sampietro, 2003).

2.4. Naturaleza Química de los Agentes Alelopáticos

La naturaleza de los agentes alelopáticos es muy variada. A medida que progresan las investigaciones del tema se incorporan nuevos grupos de sustancias. Las células vegetales son capaces de producir millones de moléculas diferentes, divididas en grupos según su función según (Stryer 2004; Lehninger 2005; Voet *et al*., 2005) citado en (Ruiz, 2012).

Según nos muestran Maldonado & Encalada (2008) los agentes alelopáticos son metabolitos secundarios y los compuestos conocidos fueron aislados de las plantas y el suelo. La naturaleza química de los agentes alelopáticos es muy variada. A medida que progresan las investigaciones en el tema se incorporan nuevos grupos de sustancias a las cuales no se

les atribuía esta actividad biológica. Normalmente la literatura especializada los ordena en los siguientes grupos:

2.4.1. ***Lactonas no saturadas:*** La psilotina y psilotinina son producidas por *Psilotum nudum* y *Twesiperis tannensis*, respectivamente. La protoanemonina es producida por varias ranunculáceas. Son poderosos inhibidores de crecimiento, aunque el rol de estos compuestos en alelopatía no se conoce completamente afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.2. ***Lípidos y ácidos grasos:*** Existen varios ácidos grasos tanto de plantas terrestres como acuáticas que son inhibitorios de crecimiento vegetal. Se pueden citar entre otros los ácidos linoleico, mirístico, palmítico, láurico e hidroxiesteárico. Su rol en alelopatía no está completamente investigado afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.3. ***Terpenoides:*** Las plantas superiores producen una gran variedad de terpenoides, pero de ellos solo unos pocos parecen estar involucrados en alelopatía. Frecuentemente estas sustancias se aislaron de plantas que crecen en zonas áridas y semiáridas. Los monoterpenos son los principales componentes de los aceites esenciales de los vegetales y son los terpenoides inhibidores de crecimiento más abundantes que han sido identificados en las plantas superiores. Son conocidos por su potencial alelopático contra malezas y plantas de cultivo. Entre los más frecuentes con actividad alelopática se pueden citar el alcanfor, a y b pineno, 1,8-cineol, y dipenteno. Dentro de las plantas que los producen podemos citar los géneros *Salvia spp, Amaranthus*, *Eucalyptus*, *Artemisia*, y *Pinus*. Un sesquiterpeno destacado es el ácido abscísico una importante hormona vegetal y también agente alelopático afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.4. ***Glicósidos cianogénicos:*** Entre ellos se encuentran la durrina y amigdalina (o su forma reducida prunasina) de reconocida actividad alelopática. La hidrólisis de estos compuestos da lugar no sólo a cianhídrico sino también a hidroxibenzaldehído que al oxidarse origina el ácido p-hidroxibenzoico, el cual posee por sí mismo actividad alelopática. La durrina es frecuente entre especies tanto cultivadas como silvestres del género *Sorghum*. Amigdalina y prunasina son frecuentes en semillas de *Prunaceae* y *Pomaceae* actuando como inhibidores de germinación. La mayoría de los miembros de la familia *Brassicaceae* producen grandes cantidades de estos

glicósidos, los que por hidrólisis producen isotiocianato con igual actividad biológica afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.5. Compuestos aromáticos: Estos comprenden la más extensa cantidad de agentes alelopáticos. Incluye fenoles, derivados de los ácidos benzoicos, derivados del ácido cinámico, quinonas, cumarinas, flavonoides y taninos afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6. Fenoles simples: Entre ellos las hidroxiquinonas y la arbutina, se aislaron de lixiviados de Arctostaphylos e inhiben el crecimiento de varias plantas afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.1. *Ácido benzoico y derivado:* Derivados del ácido benzoico tales como los ácidos hidroxibenzoico y vainíllico, están comúnmente involucrados en fenómenos alelopáticos. Dentro de las especies que los contienen se pueden citar el pepino, la avena (*Avena sativa*) y el sorgo. También se detectó la presencia de estos frecuentemente en el suelo afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.2. *Acido cinámico y sus derivados:* La mayoría de estos compuestos son derivados de la ruta metabólica del ácido shikímico y están ampliamente distribuídos en las plantas afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.3. *Quinonas y derivados:* varias de las quinonas y sus derivados provienen de la ruta metabólica del ácido shikímico afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.4. *Cumarinas:* Las cumarinas está presente en muchas plantas. La metil esculina fue identificada en *Ruta, Avena* e *Imperata.* Compuestos tales como escopolina, escopoletina y furanocumarinas tienen capacidad inhibitoria del crecimiento vegetal afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.5. *Flavonoides:* Una amplia variedad de flavonoides tales como floridzina (producida por *Malus* y algunas ericáceas) y sus productos de degradación tales como glicósidos de quempferol, quercetina y myrcetina son agentes alelopáticos bien conocidos afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.6.6. *Taninos:* Los taninos, tanto los hidrolizables como los condensados, tienen efectos inhibitorios debido a su capacidad para unirse a proteínas. Taninos hidrolizables comunes tales como los ácidos: gálico, elágico, trigálico, tetragálico y quebúlico están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. La mayoría están

presentes en suelos de bosques en concentraciones suficientes para inhibir nitrificación. Los taninos condensados, los cuales se originan de la polimerización oxidativa de las catequinas, inhiben las bacterias nitrificantes en suelos forestales y reducen el ritmo de descomposición de la materia orgánica el cual es importante para los ciclos de circulación de minerales en el suelo afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.4.7. Alcaloides: Pocos alcaloides se conocen con actividad alelopática. Algunos como la cocaína, cafeína, cinconina, fisostigmina, quinina, cinconidina, estricnina son reconocidos inhibidores de la germinación. La cebada exuda por sus raíces la gramina que inhibe el crecimiento de *Stellaria media*. La cafeína mata ciertas hierbas sin afectar algunas especies cultivadas como, por ejemplo, el poroto afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.5. Modo de liberación de los agentes alelopáticos

Una variedad de agentes alelopáticos es sintetizados y almacenados en diferentes células de la planta ya sea en forma libre o conjugada con otras moléculas y son liberados en el entorno en respuesta a diferentes estreses bióticos y abióticos. Muy poco se sabe sobre la liberación de aleloquímicos de tejido viviente, incluyendo los modos de regulación o influencia ambiental sobre esos procesos. Por ejemplo, ensayos con sorgo mostraron que, al exponer semillas del mismo a radiaciones gamma, las plantas originadas exudaban por sus raíces mayor cantidad de agentes alelopáticos que plantas provenientes de simiente no sometida a dicho tratamiento. Por otra parte, es un interrogante sin respuesta si los aleloquímicos son liberados en forma activa o a través de un escape pasivo. Existen sustancias exudadas por las raíces de ciertas plantas que no pueden aislarse de los tejidos radiculares de éstas. En sorgo las p-benzoquinonas, conocidas como sorgoleone, son exudadas en forma abundante por la raíz. Sin embargo, no han sido encontradas en los tejidos radicales. De todas maneras, se puede afirmar que el modo de liberación de un agente alelopático depende de su naturaleza química. Las plantas superiores liberan regularmente compuestos orgánicos por volatilización de sus superficies y a través de lixiviados de hojas y exudados de raíces. Eventualmente, los constituyentes químicos de todos los organismos son liberados al entorno a través de procesos de descomposición, incorporándose a la matriz del suelo. Por tanto, existen 4 vías principales de liberación al entorno de los aleloquímicos.

A continuación, analizaremos cada una de ellas afirma Maldonado & Encalada (2008). Ver figura 2.

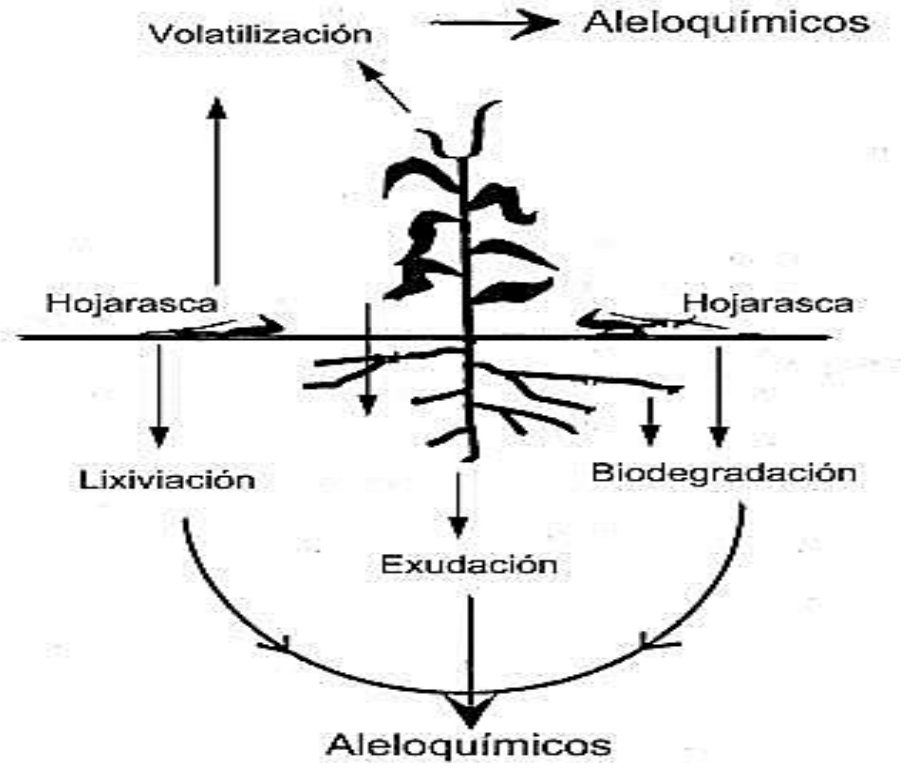

Figura 2. Vías a través de las cuales se liberan los agentes alelopáticos al entorno Obtenido de Maldonado & Encalada (2008).

2.5.1. Volatilización

La liberación de agentes alelopáticos por volatilización está frecuentemente confinada a plantas que producen terpenoides. Los géneros que comúnmente liberan compuestos volátiles incluyen *Artemisia, Salvia, Parthenium, Eucalyptus y Brassica*. Estas sustancias han demostrado también actividad insecticida y como disuasivos alimenticios. La toxicidad de los compuestos volátiles es prolongada, debido a su adsorción a las partículas del suelo, lo cual les permite permanecer varios meses en él. En ecosistemas de desierto y mediterráneos, la liberación de compuestos alelopáticos a través de volatilización es frecuentemente observada, debido al predominio de altas temperaturas, e influencia la distribución de las especies vegetales afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.5.2. Lixiviación

La lixiviación es la remoción de sustancias presentes en la planta por efecto de la lluvia, nieve, niebla o rocío. El grado de lixiabilidad depende del tipo de tejido vegetal, la edad de la planta y la cantidad y naturaleza de la precipitación. De esta manera se liberan una gran variedad de agentes alelopáticos de diferente naturaleza tales como compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides. Se ha determinado la toxicidad de muchos lixiviados de semillas y hojas sobre plantas silvestres y cultivadas afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.5.3. Exudados radiculares

La reducción en rendimiento observada en algunos cultivos en varios casos se ha atribuido a toxinas liberadas por otros y malezas adyacentes. Se conocen sustancias exudadas por las raíces que reducen la germinación de las semillas, el crecimiento de raíces y brotes, la incorporación de nutrientes y la nodulación. Los exudados radiculares comprenden únicamente entre el 2-12% del total de fotosintatos de la planta. La mayoría de los agentes alelopáticos conocidos son exudados radiculares. Factores tales como la edad del vegetal, nutrición, luz y humedad influencian cualitativa y cuantitativamente la liberación de sustancias por las raíces afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.5.4. Descomposición de residuos vegetales

Los residuos en descomposición de la planta liberan una gran cantidad de agentes alelopáticos. Los factores que influencian este proceso incluyen la naturaleza del residuo, el tipo de suelo, y las condiciones de descomposición. Eventualmente las sustancias alelopáticas liberadas por los residuos vegetales en el suelo entran en contacto con las raíces de plantas presentes en el mismo ejerciendo su acción. Los compuestos liberados por la planta al suelo sufren frecuentemente transformaciones realizadas por la microflora del mismo, que pueden originar productos con actividad biológica mayor que sus precursores. Investigaciones utilizando extractos acuosos vegetales han demostrado que los inhibidores solubles en agua presentes en la planta de cultivo pueden ser rápidamente liberados durante el proceso de descomposición afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.6. Compuestos alifáticos

Pocos de estos compuestos son conocidos por su actividad inhibitoria de la germinación de semillas y el crecimiento de plantas. Comprenden varios ácidos (p.ej. oxálico, crotónico, fórmico, butírico, acético, láctico y succínico) y alcoholes (tales como metanol, etanol, n-propanol y butanol) solubles en agua, que son constituyentes comunes presentes en plantas y suelo. Bajo condiciones aeróbicas los ácidos alifáticos son rápidamente metabolizados en el suelo, por lo cual no pueden considerarse una importante fuente de actividad alelopática afirma Maldonado & Encalada (2008).

2.7. Metabolitos primarios

Son todas aquellas moléculas que intervienen en los procesos químicos. Se relacionan de forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. También implicadas en la estructura y función de la célula, entre ellas están los glúcidos, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleicos según (Ruiz, 2012).

Según afirma (Pérez, 2017) se llama metabolismo primario de las plantas a los procesos químicos que intervienen en forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. Son procesos químicos pertenecientes al metabolismo primario de las plantas: la fotosíntesis, la respiración, el transporte de solutos, la translocación, la síntesis de proteínas, la asimilación de nutrientes, la diferenciación de tejidos, y en general la formación de carbohidratos, lípidos y proteínas que intervienen en estos procesos o son parte estructural de las plantas.

Son metabolitos primarios de las plantas los compuestos químicos que intervienen en los procesos mencionados: los aminoácidos destinados a la formación de proteínas, los nucleótidos, los azúcares, los acilglicéridos. Debido a su carácter universal en el Reino de las plantas, los procesos que intervienen en el metabolismo primario y sus metabolitos, se encuentran en todas las plantas sin excepción, afirma (Pérez, 2017).

El concepto de metabolitos primarios fue creado en contraposición al de "metabolitos secundarios de las plantas", que no cumplen un rol directo en la supervivencia de la planta y por lo tanto su ausencia no es letal para ésta, aunque sí cumplen importantes roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros, afirma (Pérez, 2017).

2.8. Metabolitos secundarios

Son compuestos derivados de rutas secundarias más complejas del metabolismo celular. Se sintetizan a partir de moléculas intermediarias o "bisagras" como el acetato, mevalonato, shikimatos entre otros. Gracias al avance científico técnico en las ciencias químicas y farmacéuticas se han podido descubrir y dilucidar compuestos que, según ensayos biológicos, poseen efectos de interés según (Ruiz, 2012).

Para la separación y purificación de sustancias se ha empleado tradicionalmente los métodos cromatográficos. Algunos como la cromatografía en capa delgada (CCD), en columnas, cromatografía líquida de alta eficacia o de gases permiten obtener sustancias cada vez más puras como lo afirma (Dierksmeier 2005) citado en (Ruiz, 2012).

También metabolitos secundarios de las plantas, se denomina a los compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas. Los metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. También se diferencian de los metabolitos primarios en que cada uno de ellos tiene una distribución restringida en el reino de las plantas, a veces a sólo una especie o un grupo de ellas, por lo que muchos de ellos son útiles en Botánica Sistemática afirma (Pérez, 2017).

Por muchos años el valor adaptativo de la mayoría de los metabolitos secundarios fue desconocido. Muchas veces fueron pensados simplemente como productos finales de procesos metabólicos, sin función específica, o directamente como productos de desecho de las plantas. En general fueron percibidos como insignificantes por los biólogos por lo que históricamente han recibido poca atención por parte de los botánicos. Muchas de las funciones de los metabolitos secundarios aún son desconocidas afirma (Pérez, 2017).

El estudio de estas sustancias fue iniciado por químicos orgánicos del siglo XIX y de principios del siglo XX, que estaban interesados en estas sustancias por su importancia como drogas medicinales, venenos, saborizantes, pegamentos, aceites, ceras, y otros materiales utilizados en la industria. De hecho, el estudio de los metabolitos secundarios de las plantas estimuló el desarrollo de las técnicas de separación, la espectroscopía para dilucidar su

estructura, y metodologías de síntesis que hoy constituyen la fundación de la química orgánica contemporánea afirma (Pérez, 2017).

En estudios biológicos más recientes se determinó que la mayoría de los metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, actúan como agentes alelopáticos (que son liberados para ejercer efectos sobre otras plantas), o para atraer a los polinizadores o a los dispersores de las semillas (Swain 1973, Levin 1976, Cronquist 1977) citados en (Pérez, 2017).

El reconocimiento de propiedades biológicas de muchos metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo, en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas. Además, la creciente apreciación de los altamente diversos efectos biológicos de los metabolitos secundarios ha llevado a reevaluar los diferentes roles que poseen en las plantas, especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas afirma (Pérez, 2017).

2.9. Mecanismos de acción de los agentes alelopáticos

La mayor parte de los agentes alelopáticos en plantas superiores, corresponden a metabolitos secundarios. Existe una gran diversidad de estos compuestos que pueden ser sintetizados. La comprensión de los mecanismos de acción de los aleloquímicos, tienen dos formas fundamentales de acción como lo afirma (Blum *et al*., 1992) citado en (Ruiz, 2012).

2.9.1. Acción indirecta

Alteraciones de las propiedades y componentes que determinan la disponibilidad de nutrientes del suelo. Su efecto para las poblaciones de plantas adyacentes y sobre la actividad de microorganismos beneficiosos del suelo que cumplen funciones de transformación y humidificación. Y hongos patógenos que causan enfermedades a las plantas según (Ruiz, 2012).

2.9.2. Acción directa

Efecto del aleloquímico en el crecimiento y el metabolismo del organismo diana. Por ejemplo, en la estructura celular, balance de reguladores del crecimiento, permeabilidad de la membrana, germinación, fotosíntesis, actividad enzimática y otros. Dentro de este

tipo de acción las más estudiadas han sido: el efecto sobre la actividad enzimática, sobre la respiración y en procesos asociados a membranas según (Ruiz, 2012).

2.9.2.1. Efectos sobre la actividad enzimática

Existen muchos compuestos alelopáticos con capacidad de modificar la síntesis o actividad de enzimas tanto in vitro como in vivo. La mayoría de estas sustancias han demostrado un efecto dual sobre la regulación de la actividad enzimática. Por ejemplo, plántulas de maíz tratadas con ácido felúrico mostraron un incremento en los niveles de enzimas oxidativas (peroxidasas, catalasas y ácido indolacéticoxidasa) junto con una elevación de enzimas de la ruta del ácido shikímico tales como fenilalanina-amonioliasa y cinamilalcohol-deshidrogenasa involucradas en la síntesis de compuestos fenilpropanoides. También al ácido felúrico se le atribuye la inhibición de enzimas hidrolíticas tales como la amilasa, maltasa, invertasa, proteasa y fosfatasa ácida presente en la movilización del material alimenticio según (Sampietro 2003) citado en (Ruiz, 2012).

2.9.2.2. Efectos sobre la respiración

Algunos compuestos químicos reducen la respiración radicular hasta un 90% en raíces de millo (*Panicum miliceum* L.), tal es el caso de juglona y sorgoleone, la primera afecta la incorporación de oxígeno a la mitocondria y la segunda el transporte de electrones en la cadena respiratoria como lo afirma (Silva 2008) citado en (Ruiz, 2012).

2.9.2.3. Efectos sobre procesos asociados a membranas

Los derivados de los ácidos benzoico y cinámico tienen profundos efectos sobre las membranas. Son capaces de provocar cambios en la polaridad de estas causando alteraciones en su estructura y permeabilidad. Otras sustancias como el ácido hidroxibutírico presente también en los rastrojos de varias plantas provocan efectos similares según (Silva 2008) citado en (Ruiz, 2012).

2.10. Alelopatía sobre hongos fitopatógenos del suelo

Actualmente se conoce una amplia gama de sustancias de origen vegetal capaces de incidir sobre los hongos del suelo. El empleo de métodos de ensayos biodirigidos

permite conocer de forma concisa, en función de la respuesta del patógeno, cuál es la acción de las sustancias probadas. Esta modalidad de experimentación ha sido importante en las investigaciones alelopáticas, pues debido a la complejidad del fenómeno es necesario el análisis exhaustivo de los resultados y en función de estos poder decidir cuál es el próximo paso a seguir para dilucidar las causas, de los efectos observados según (Monroy-Vazquez 2009; Pupo-Blanco 2010) citados en (Ruiz, 2012).

Según afirma (Cárdenas, 2014) en su trabajo sobre las plantas alelopáticas, menciona que las lactonas son aleloquímicos isopreniodes que pueden ocasionar efectos antimicóticos sobre hongos, causando el englobamiento de las esporas de ciertos hongos fitopatógenos hasta flocular junto a ellos, impidiendo su diseminación sobre las láminas foliares.

2.11. Características de *Rhizoctonia solani* Kühn

Este hongo se clasifica dentro de la Clase *Deuteromycetes* u hongos imperfectos, orden *Mycelia sterilia*. En su etapa perfecta se corresponde con *Thanatephorus cucumeris* (A. B. Frank) Donk, Familia *Ceratobasidiaceae*, Orden *Cantharellales*, Subclase *Incertae sedis*, Clase *Agaricomycetes*, División *Basidiomycota*, Reino Fungi según (Index Fungorum 2008) citado en (Ruiz, 2012).

Rhizoctonia solani es el agente causal de la rizoctoniosis, también conocida en muchos lugares como chancro del cuello, tallo hueco, "damping off" o marchitez de las posturas, pudriciones del tallo y órganos subterráneos, en numerosas plantas cultivadas y silvestres. El hongo presenta amplia distribución mundial siendo reportado en numerosos países según (Herrera 2004) citado en (Ruiz, 2012).

Rhizoctonia solani Kühn, habitante natural del suelo, causa variados síntomas de enfermedad en una amplia diversidad de plantas. Es un hongo que presenta una especie muy heterogénea conformada por numerosas cepas, las cuales difieren en las características del crecimiento in vitro y en patogenicidad (Ogoshi, 1987). En el cultivo de la papa, el hongo causa la enfermedad comúnmente llamada cáncer del tallo y costra negra de los tubérculos. Algunos autores consideran más apropiado identificarla como "rizoctoniosis" según lo afirman Escalona & Rodríguez (2011).

Rhizoctonia solani Kühn pertenece a la clase Hyphomycetes; es la fase patogénica y se caracteriza porque no produce conidias, las hifas son de color marrón oscuro, las células son multinucleadas y la base de la célula que da origen a una ramificación tiene una constricción. T. cucuminis pertenece a la Clase Basidiomicetes afirma (Torres, 2002) citado en (Gualoto, 2019).

Las hifas de este hongo tienen la particularidad de anastomosarse, condición que se ha tomado en cuenta para clasificarlo en grupos de anastomosis (GA). Existen al menos trece grupos de anastomosis, relacionados, pero genéticamente distintos. Estos grupos se dividen en subgrupos en base a la morfología de los cultivos, patogenicidad, rango del hospedero, requerimientos nutricionales y propiedades bioquímicas y genéticas. El más común de ellos, es AG-3, el cual es el principal causante de la enfermedad de la costra negra en papa, que consiste en el desarrollo de esclerocios color negro en la superficie de los tubérculos durante las etapas tardías del desarrollo según (Das *et al*., 2014) citado en (Gualoto, 2019).

Según Castro & Contreras (2011), un esclerocio se define como una masa de hifas deshidratadas, compactadas, de tamaño variable y color marrón, que forman un cuerpo de resistencia de algunos hongos. Acuña y Araya (2017) afirman que estas estructuras tienen la capacidad de permanecer latentes por prolongados periodos de tiempo. Este hongo puede sobrevivir en restos de plantas en forma de micelio y en el suelo como esclerocios citado en (Gualoto, 2019).

Los síntomas más comunes de las enfermedades por Rhizoctonia, principalmente por R. solani, en la mayoría de las plantas son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, así como la pudrición y la cancrosis del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento. Sin embargo, en algunos hospedantes, Rhizoctonia causa también la pudrición de los órganos vegetales almacenados, así como los tizones o manchas del follaje, especialmente del follaje que se encuentra cerca del suelo afirma (Agrios, 2005) citado en (Gualoto, 2019).

2.12. Características de *Sclerotium rolfsii* Sacc

El hongo se clasifica dentro de la Clase Deuteromycetes u hongos imperfectos, Orden *Mycelia sterilia*. En su fase telomórfica es un basidiomiceto denominado primeramente

Corticium rolfsii Curzi, después *Pellicularia rolfsii* (Curzi) West y actualmente conocida como Athelia rolfsii (Curzi) C.C. Tu y Kimbrough (Domsch et al, 1980), Familia Atheliaceae, Orden Atheliales, Subclase Agaricomycetidae, Clase Agaricomycetes, División Basidiomycota, Reino Fungi (Index Fungorum 2008). En cuanto a los hospedantes el hongo afecta más de 200 géneros de plantas, entre ellos se destacan las familias Solanaceae y Fabaceae según Mardec 2007 & Díaz (2011) citados en (Ruiz, 2012).

Los primeros síntomas visibles de *Sclerotium rolfsii* ocurren donde las partes de la planta, como las raíces, los tallos, las hojas y los frutos, entran en contacto con el suelo. Generalmente, se forman lesiones marrones y rápidamente se convierten en tejido descompuesto, acuoso y suave. Las partes infectadas de la planta se marchitan y se vuelven cloróticas debido a la interrupción de la absorción de nutrientes de la planta. Si las condiciones son muy cálidas y húmedas, se desarrollará micelio blanco en el tejido de la planta. Aunque es similar a *Sclerotinia*, no se forma en la parte superior de la cobertura foliar de la planta. Si las coberturas foliares de las plantas son densas y la humedad es alta, la enfermedad se puede propagar rápidamente en toda una planta y transferirse de una planta a otra según afirma (Buechel, 2020).

2.13. Descripción Botánica de *Tectona grandis*

Tectona grandis L. f. también conocida como teca es un árbol originario de la India, Tailandia y Laos. La primera plantación de teca en Ecuador se estableció en 1950 en la Estación Experimental Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en Quevedo, con semillas procedentes de la India, a partir de ella se expandieron nuevas plantaciones como monocultivo, según afirman Canchignia, Hernández, González & Mayek (2007) citados en (Esolano, 2019).

La teca es considerada como una de las especies forestales de mayor importancia económica debido a su rápido crecimiento, pues está siendo comercializada en mercados internacionales. Además es una de las principales maderas preciosas que existen en el mundo apreciada por su dureza, su color y su excelente fibra (Ecuador. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, 2016). En Ecuador los sitios de teca de gran escala se

encuentran en las provincias de Guayas, Manabí, Esmeraldas y Los Ríos (Aramas, 2014) citado en (Esolano, 2019).

Los árboles pueden sufrir daños estando en ambientes naturales, en plantaciones puras o en sistemas agrosilvopastoriles y agroforestales, debido a su extensión y distribución son propicias para el desarrollo de problemas fitosanitarios. Los organismos causantes de problemas fitosanitarios pueden ser nativos o introducidos, algunos están en la capacidad de colonizar y adaptarse a nuevos hospedantes cuando la concurrencia alimenticia es favorable (Pinzón, 2007) citado en (Esolano, 2019).

Los problemas que provocan los insectos representan una amenaza para los productos forestales, por lo que el desarrollo de conocimientos en este campo y la difusión de los mismos, es fundamental dentro de la silvicultura de plantaciones y específicamente para la teca Flores, Crespo & Cabezas (2010). Actualmente las plantaciones están siendo atacadas por escolítidos en la mayoría de los casos son parásitos secundarios incapaces de introducirse en los troncos de árboles vigorosos, pero cuando existe un debilitamiento en la masa forestal por causa del ataque de insectos defoliadores, malas condiciones edáficas, daños por hongos, entonces estos perforadores atacan fácilmente Monreal & Serrano (2000) citado en (Esolano, 2019).

Tectona grandis es un árbol de hoja caduca de gran tamaño con una copa redondeada y, cuando crece en condiciones favorables, un fuste cilíndrico alto y limpio de más de 25 m. A menudo, en la base del árbol aparecen contrafuertes (ensanchamientos en la base producidos por una hinchazón exagerada de las raíces) y a veces es acanalado (presenta depresiones y abultamientos irregulares en el fuste). Las hojas son elípticas u aovadas y de una longitud de 30 a 60 cm. En la mayor parte de su área de distribución, la teca se da en bosques de frondosas húmedos y secos por debajo de una altitud de 1 000 m y es una de las varias especies que constituyen las masas forestales mezcladas. Donde mejor crece es en lugares con unas precipitaciones anuales de 1 250 a 3 750 mm, una temperatura mínima de 13 a 17 ºC y una temperatura máxima de 39 a 43 ºC según Pandey & Brown (2000).

2.14. Métodos de obtención de extractos vegetales

Los extractos vegetales son la separación de componentes solubles de una planta, procurando la mínima alteración de las sustancias activas, se pueden obtener por procesos

físicos, químicos y microbiológicos, a partir de una fuente vegetal y utilizable en cualquier campo de la industria química y médico-farmacéutica según (Treybal, 1986) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.1. Extracción mecánica

En este método extractivo la técnica se realiza por presión. Esto consiste en introducir una planta fresca en una prensa hidráulica y así se obtiene un jugo. En este jugo se encuentra disueltos los principios activos de interés, también se la puede hacer mediante cortes por los que caen los fluidos de la planta según (Osorio, 2009) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.2. Destilación

Esta técnica se basa en la diferente volatilidad de los principios activos de la planta, lo cual permite la separación de los componentes volátiles, como son los aceites esenciales. Por ejemplo, de otros que son menos o nada volátiles. Estos aceites son productos grasos compuestos por un número muy grande de compuestos químicos según (Santana, 2014) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.3. Extracción con fluidos supercríticos

Los fluidos supercríticos presentan propiedades entre un gas y un líquido. Estas características favorecen su penetración y la solubilización de los solutos. El proceso consiste en colocar el material vegetal molido en una cámara de acero inoxidable y hacer circular, a través de la muestra, un fluido en estado supercrítico según (Sánchez, 2009) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.4. Extracción con disolventes

Es un proceso químico utilizado para separar una mezcla de compuestos aprovechando su diferencia de solubilidad. Este método consiste en la separación de los principios activos de la planta al ponerla en contacto con un solvente o la mezcla de ellos, capas de solubilizar dichos principios según (Pérez, 2009) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.5. Extracción continua o progresiva

En la extracción continua, el solvente se va renovando o recirculando y actúa sobre la planta en una sola dirección según (Sharapin, 2000) citado en (Mosquera, 2018). La

percolación, la repercolación y el soxhlet son las técnicas que pertenecen a este grupo y se describen a continuación:

2.14.5.1. Percolación

Proceso mediante el cual se mueven y filtran fluidos a través de materiales porosos. En este método el menstruo (alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa el material vegetal pulverizado en un solo sentido, el material vegetal es bañado por nuevas proporciones de menstruo y cede todos sus componentes solubles según Miranda & Cuéllar (2001) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.5.2. Soxhlet

Esta técnica ha sido un método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo pasado, siendo el método principal de referencia para comparar otros métodos. Se centra en la extracción sólido-líquido mediante un equipo Soxhlet que tiene como función recircular los vapores condensado según (Caldas, 2012) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.5.3. Maceración

Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente protegido de la luz (Voigt, 1982). Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua, etanol o glicerina) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles, tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto según (González A., 2004) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.5.4. Infusión

Es una solución diluida de constituyentes de fácil solubilidad del material vegetal crudo. Se vierte el agua hirviendo sobre la planta colocada en un recipiente de cierre bien ajustado, a fin de evitar que los aceites se evaporen y causen la pérdida de principios activos. Se deja en reposo de 5 a 15 minutos según (Guerra, 2005) citado en (Mosquera, 2018).

2.14.5.5. Reflujo

La extracción sólido-líquido es la más utilizada y se emplea cuando la sustancia que se desea extraer está contenida en un material sólido, junto con otros componentes, los cuales deberían ser prácticamente insolubles en el disolvente utilizado. Es muy usada para aislar sustancias naturales de origen vegetal y realizar una extracción de forma continua y utilizarse como método directo llamado técnica a reflujo, según Alvarado & Adrianzén (2018).

2.14.5.6. Decocción

Este procedimiento se usa para principios activos que no sufran alteraciones con la temperatura. Consiste en llevar a la mezcla del material vegetal más menstruo a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos según Selles, Sánchez, Solan, Suiñe, & Tico (1992) citados en (Mosquera, 2018).

2.14.5.7. Extracción asistida por ultrasonido

La técnica de extracción asistida por ultrasonidos (EAU), también llamada sonoquímica, trata de compresiones y expansiones en forma de onda longitudinal a través de un medio mecánico a frecuencias entre 20 – 100 kHz produciéndose burbujas, llenas de vapor o gas debido a la acción del campo ultrasonoro dentro de un líquido y cuyo tiempo de vida es del orden de un microsegundo. La presión que se transmite es presión efectiva que es la suma de la presión hidrostática y acústica en un punto determinado y a un tiempo. A nivel molecular, el fenómeno de la sonoquímica se denomina cavitación. Las microburbujas se generan cuando la distancia que separa las moléculas es superior a la de cohesión. Éstas absorben energía de las ondas y crecen isotérmicamente hasta alcanzar un tamaño crítico e implosionan adiabáticamente. Antes de colapsar, a su alrededor generan puntos calientes (hots pots) con grandes gradientes de presión (1000 – 2000 bares) y temperatura (4000 – 6000 k) y la formación de especies muy reactivas tales como los radicales hidroxilos (·OH), hidroxiperoxilo (·OOH) y el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) según afirma (Lucena, 2019).

En el sistema que cavita existen tres zonas de actividad:

- Interior de la burbuja, donde se originan reacciones radicalarias por ruptura homolítica de los enlaces.
- Región interfacial con unas temperaturas alrededor de 1000 K.
- El líquido externo a la microburbuja donde no hay actividad sonoquímica primaria, pero si se pueden producir reacciones subsiguientes de los intermedios generados.

El ultrasonido provoca la ruptura de la pared celular, la reducción del tamaño de las partículas y el incremento de la masa que se transfiere a través de las membranas, también facilita la rehidratación del tejido y la abertura de los poros por lo que las sustancias, que se encuentren en células internas o externas del tejido, son extraídas con mayor rapidez. Al reducir el tamaño de las partículas de la muestra, se incrementa el área de contacto entre la fase sólida y el disolvente, lo que, por difusión y procesos osmóticos, favorece la transferencia de masa de los constituyentes solubles según afirma (Lucena, 2019).

2.14.5.8. Extracción asistida por microondas

Se conoce que el uso del microondas para la extracción de compuestos orgánicos se desarrolló por primera vez utilizando un horno de microondas doméstico a finales de la década de los 80 Ganzler, Salgó, & Valkó (1986). Las microondas son radiaciones electromagnéticas no ionizantes, no causan cambios en la estructura molecular, pero producen movimientos, como la rotación de dipolos de moléculas, que generan colisiones moleculares permitiendo así que algunas sustancias se calienten (Gianna et al., 2012). La interacción entre la energía de la microonda y el medio depende de las propiedades dieléctricas de la sustancia que se está calentando y de la cantidad de radiación de microonda que puede penetrar una sustancia. Cuanto mayor es la constante dieléctrica, mayor es la energía térmica desprendida y, por ende, más rápido es el calentamiento según afirma (Gianna et al., 2012) citado en (Villacis, 2018).

La extracción asistida por microondas (MAE) utiliza la radiación de microondas como fuente de calentamiento de la muestra y del disolvente. Debido a los efectos particulares de las microondas sobre la materia (rotación dipolar y conductancia iónica), la calefacción con microondas es muy rápida y se produce en el seno de la muestra, dando lugar a extracciones muy rápidas (Gianna, 2013). El calentamiento dieléctrico puede resultar de la polarización

dipolar como consecuencia de la interacción dipolo-dipolo de moléculas polares con el campo electromagnético, que origina disipación de energía como calor, debido a la agitación y fricción generadas cuando los dipolos cambian de orientación mutua por la alternación del campo eléctrico a alta frecuencia según afirma (Gianna, 2013) citado en (Villacis, 2018).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

El presente trabajo es una investigación de tipo documental cualitativa, de investigación – acción, debido a que el objetivo es proponer una solución, dado el poco conocimiento de una técnica más asequible para extraer metabolitos secundarios de las hojas de Teca y aplicarlos en el control contra hongos fitopatógenos del suelo, en diferentes sistemas de cultivo.

3.2. Métodos de la investigación

Se realizará una gestión del sistema socio-ecológico con enfoque por ecosistemas.

3.3. Análisis de las técnicas más utilizadas a nivel mundial e implementadas en Ecuador y Latinoamérica para la obtención de extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *T. grandis* y sus aplicaciones contra hongos fitopatógenos en sistemas de cultivo

Varias técnicas han demostrado ser de gran utilidad al momento de extraer compuestos activos de las plantas, ya sea en extractos etéreos, etanólicos o acuosos.

Entre las técnicas más utilizadas para extraer metabolitos secundarios se encuentran: ultrasonido, Soxhlet, reflujo y maceración.

3.4. Propuesta de una técnica de extracción por maceración en frío, para la obtención de extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *T.grandis* y aplicable contra hogos fitopatógenos del suelo en diferentes sistemas de cultivo

Considerando el estudio de diversas técnicas para la obtención de metabolitos secundarios, presentes en el extracto de hojas de *T. grandis.* Se propone la técnica de extracción por maceración en frío, que consta de equipos y materiales altamente asequibles.

3.5. Evaluación técnica, operativa y de asequibilidad para establecer una aplicación directa de los extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios, flavonoides y taninos del extracto de hojas de *T. grandis* en diferentes sistemas de cultivo

La valoración de la técnica por maceración en frío cumple con un conjunto de procedimientos, que realizados de forma correcta aseguran un resultado eficiente de la extracción y acción antifúngica eficaz del extracto acuoso, obtenido de las hojas de *T. grandis*, para ser utilizado como alternativa ecológica contra hongos fitopatógenos del suelo, sus materiales destacan por ser económicos o muy fáciles de conseguir y posteriormente ser aplicable en diferentes sistemas de cultivo.

Operativamente se tomó en cuenta los aspectos relacionados con el accionar de las personas en el campo y zonas rurales.

En la asequibilidad se valoró la facilidad de obtención de la materia prima, incluso se recomienda alternativas de reutilización de botellas plásticas o de vidrio, sin incurrir en gastos adicionales.

En la materia prima se aplicó un proceso de secado a temperatura ambiente a luz del sol y trituración simple para ponerla en contacto con el agua y poder realizar la maceración en frío.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Materiales necesarios para la extracción por maceración en frío

La extracción por maceración en frío tiene múltiples ventajas respecto a otros tipos de extracciones, dada su simplicidad, bajo costo y que es adecuada para metabolitos termolábiles. Los materiales frecuentemente utilizados para este tipo de extracción se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Materiales y equipos para la extracción por maceración en frío.

MATERIALES	EQUIPOS
• Hojas secas de *T. grandis* • Agua destilada	• Tijeras • Balanza digital • Atomizador • Colador de tela • Envase de plástico, vidrio o metal.

Elaborado por: El Autor.

4.1.1. Pasos para la obtención del extracto acuoso a partir de las hojas de T. grandis, mediante la técnica de maceración en frío

La maceración en frío se puede llevar a cabo según sugiere el autor a continuación.

1. Trocear y cortar las hojas secas de *T. grandis* hasta obtener pedazos más pequeños.
2. Pesar de 25 a 30 g de las hojas secas.
3. Colocar el material vegetal en un envase de 5 litros.
4. Verter agua destilada en el envase hasta llenarlo por completo.
5. Sellar herméticamente y evitar dejar burbujas de aire en la superficie del envase.
6. Agitar el envase de uno a tres minutos.
7. Dejar reposar de 5 a 10 días en un lugar protegido de la luz.

8. Realizar agitaciones periódicas para estimular la extracción.

9. Luego de haber transcurrido el tiempo indicado, se debe proceder a destapar el envase y colar la mezcla para separar el extracto acuoso del material vegetal.

10. Verter el extracto acuoso sin impurezas en un atomizador y aplicarlo directamente sobre el suelo con indicios de hongos fitopatógenos y en plantas de diferentes sistemas de cultivo.

4.2. Proceso de extracción de metabolitos secundarios de *T. grandis* mediante la técnica de maceración en frío.

En el diagrama de bloques que se puede apreciar en la figura 3 se refleja de forma esquemática las diferentes etapas del proceso extractivo de metabolitos secundarios a partir de hojas de teca en medio acuoso.

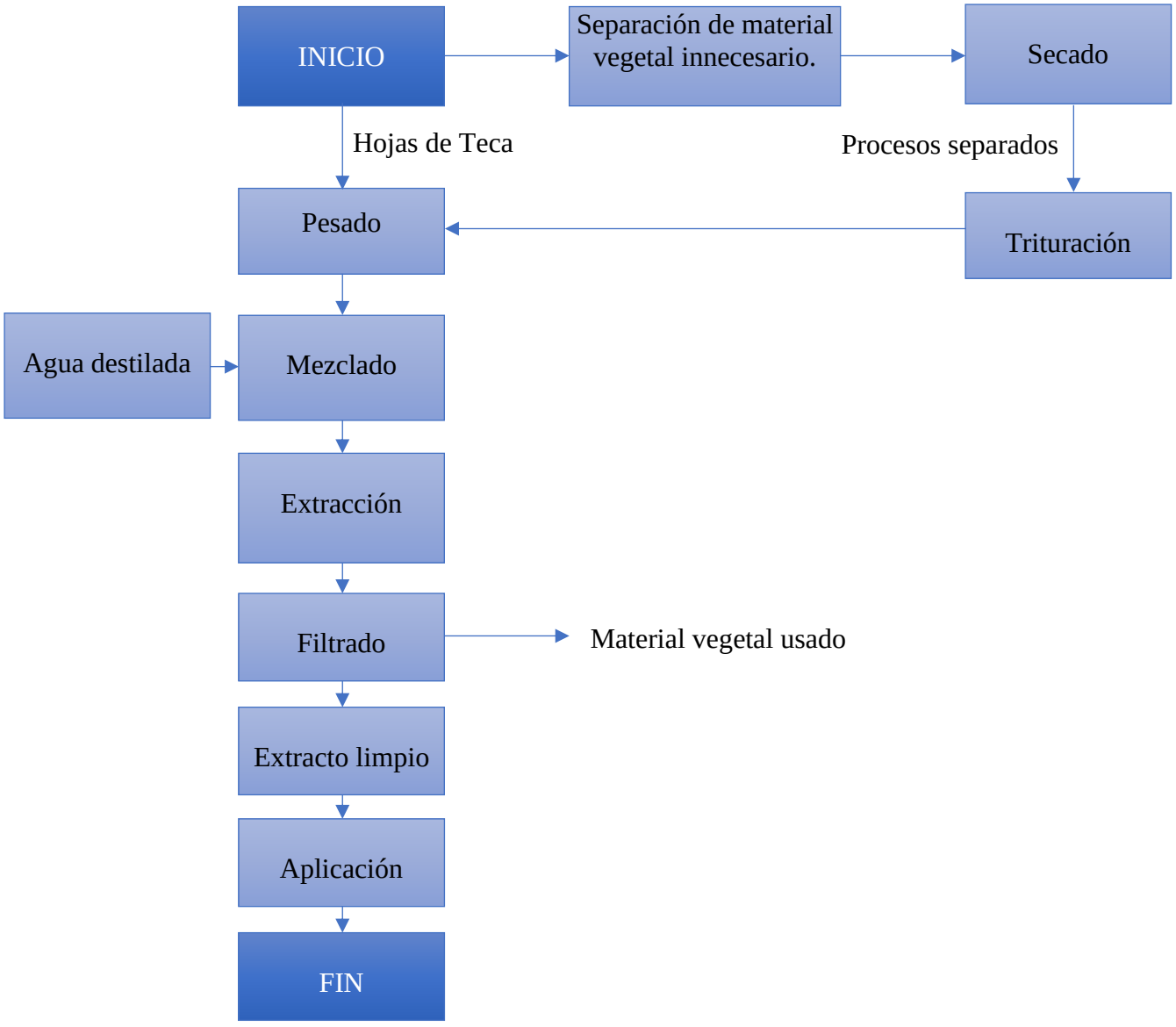

Figura 3. Diagrama de bloques para la extracción por maceración en frío.

Elaborado por: El Autor.

4.3. Análisis comparativo de ventajas y desventajas de las cuatro técnicas de extracción.

En la tabla 2 se evidencian las ventajas y desventajas de las técnicas de extracción sólido-líquido más utilizadas, para la obtención de metabolitos secundarios de las hojas de *T. grandis* tomando en cuenta que el factor principal para elegir la técnica es la asequibilidad de los materiales y equipos.

Una de las cuatro técnicas de extracción sólido-líquido propuestas en la tabla 2 resultó ser la más asequible por su simplicidad y facilidad de conseguir los materiales y equipos necesarios. La técnica de extracción por maceración en frío resultó ser la más asequible de todas.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las técnicas más utilizadas en extracción sólido-líquido y su asequibilidad.

TÉCNICA	VENTAJAS	DESVENTAJAS	ASEQUIBILIDAD
Ultrasonido	• Eficiente • Simple • Utiliza cualquier disolvente • Control de temperatura	• Consume energía eléctrica • Costo del equipo	• Comunmente asequible a nivel de laboratorio
Soxhlet	• Favorece la solubilidad del compuesto • No necesita filtración	• Consume energía eléctrica • Proceso lento • Costo del equipo e instrumentación de laboratorio • Altera compuestos termolábiles • Requiere etapa de evaporación	• Comunmente asequible a nivel de laboratorio
Reflujo	• Funcionamiento de larga duración • No requiere añadir más disolvente • Impide la evaporación de líquidos	• Consume energía eléctrica • Costo del equipo e instrumentación de laboratorio	• Comunmente asequible a nivel de laboratorio
Maceración en frío	• No consume energía eléctrica • No destruye componentes termolábiles • Utiliza de cualquier disolvente • Fácil de llevar a la práctica	• Vulnerable a la luz solar • Proceso lento	• Asequible para cualquier persona que desee poner en práctica esta técnica • Todos los instrumentos y materiales son altamente asequibles

Elaborado por: El Autor.

4.4. Análisis de los resultados comparativos respecto a las cuatro técnicas de extracción.

La técnica de extracción asistida por ultrasonido es una alternativa simple y de gran eficiencia; esta técnica ocasiona la ruptura de la pared celular del material vegetal, ocasiona una reducción del volumen de las partículas y un aumento de la masa que es transferida a través de las membranas, facilita la rehidratación de los tejidos y la apertura de los poros donde los compuestos que se encuentran en las células externas o internas de los tejidos, son extraídos con mayor facilidad. En esta técnica se puede reducir la temperatura de funcionamiento, permitiendo la extracción de componentes termolábiles, asegurando así que la estructura de los extractos no sufra alteraciones o daños, también es muy versátil porque se puede usar cualquier disolvente, aunque es necesario una inversión mayor para adquirir este equipo (Lucena, 2019).

La técnica de extracción continua en equipo Soxhlet sólido-líquido mejora la extracción porque se utiliza un solvente limpio siempre renovado, favoreciendo la solubilidad del compuesto activo, no necesita filtración, posee gran capacidad de recuperación y es de instrumentación simple. Esta técnica consiste en el lavado continuo del material vegetal con un disolvente que va extrayendo los componentes solubles de la mezcla, sin embargo, este proceso puede llegar a ser lento sin opción a reducir su tiempo, requiere gran cantidad de disolvente, puede alterar los componentes termolábiles por la elevada temperatura, requiere una etapa posterior de evaporación e incluye una inversión media para obtener todos los instrumentos necesarios que conforman el sistema (Mosquera, 2018).

La técnica de reflujo implica una condensación de los vapores y retorno del condensado al sistema donde se originó, se usa para calentar mezclas por tiempo de larga duración a temperatura de ebullición normal del disolvente, durante la cual no se debe permitir la evaporación en exceso de los líquidos, la ventaja principal de esta técnica es que puede desempeñar su funcionamiento durante un periodo de tiempo largo sin que sea necesario añadir más disolvente, no obstante, se requiere de una inversión media para la obtención de los instrumentos que conforman el sistema (Alvarado & Adrianzén, 2018).

La técnica de maceración sólido-líquido se considera una de las técnicas más simples de extracción y el sistema de debe ser protegido de la luz para evitar posibles reacciones de degradación fotolítica durante el proceso; las farmacopeas recomiendan tiempos de duración entre cuatro a diez días. Para obtener el extracto se debe colocar el material vegetal en forma de polvo o trozos, en un envase lleno de disolvente y se deja en reposo por cuatro o más días, agitando frecuentemente hasta conseguir la extracción de los compuestos activos del material vegetal (Mosquera, 2018).

La llamada maceración en frío se efectúa a temperatura ambiente, lo cuales recomendado para no alterar compuestos termolábiles de las plantas. Los disolventes mayormente utilizados son el agua y el alcohol o una combinación de ambos, en envases bien cerrados para evitar la evaporación en exceso. Esta técnica utiliza una mínima cantidad de energía, equipos simples y asequibles para obtener los compuestos activos sin alteraciones debido a la temperatura. El proceso con calor tiene la capacidad de ser más rápido para obtener resultados, pero queda en desventaja al no conseguir la extracción de los compuestos termolábiles (Mosquera, 2018).

El tiempo total del proceso de extracción por maceración va a depender del tipo de planta, parte a utilizar o del compuesto activo a extraer. La extracción puede ser limitada por la saturación del disolvente, por esto se recomienda utilizar la porción 1:20 vegetal/líquido, aunque una mayor relación favorecerá el rendimiento de la extracción. Se puede utilizar un envase de plástico, vidrio o acero inoxidable. Ventajosamente todos los materiales y equipos son asequibles o representan una inversión mínima. Los efectos alelopáticos de extractos vegetales ricos en metabolitos secundarios pueden contribuir significativamente en el control eficaz contra hongos fitopatógenos del suelo según (Mosquera, 2018).

Se ha comprobado que extractos acuosos de las hojas *T. grandis* son característicos de poseer metabolitos secundarios, principalmente taninos y flavonoides, encargados de provocar alteraciones en las mitocondrias y membranas de *R. solani* y *S. rolfsii,* impidiendo procesos básicos como la respiración y afectando la germinación o desarrollo de dichos hongos que son agentes causales de enfermedades, como el damping-off o mal del talluelo que afecta a varias especies de plantas en el desarrollo de sus fases iniciales y por ende

representan pérdidas económicas considerables de producción en diferentes sistemas de cultivo según (Ruiz, 2012).

Las comparaciones de las cuatro técnicas respecto a sus ventajas y desventajas son evidentes, considerando el factor de mayor asequibilidad de materiales y equipos, como el de mayor importancia para seleccionar la técnica que se busca en la investigación. Las tres técnicas descartadas consumen energía eléctrica y energía calorífica, la adquisición de los equipos, instrumentos y materiales tienen costos elevados o se encuentran solo a nivel de laboratorio. Mientras que la técnica seleccionada de maceración en frío no consume energía eléctrica o calorífica, extrae los componentes activos del material vegetal sin alterar su estructura, es muy versátil con el uso de disolventes y sus equipos y materiales son altamente asequibles, convirtiéndola en una técnica sencilla y fácil de llevar a la práctica, sin olvidar que puede llevar un poco más de tiempo que los procesos descartados, pero es compensada por su eficiencia en la extracción de componentes termolábiles, resultando una extracción acuosa rica en metabolitos secundarios a partir de las hojas de *T. grandis* y eficaz contra hongos fitopatógenos del suelo.

4.5. Resultados de la matriz FODA en torno a la extracción por maceración en frío y aplicación como producto natural

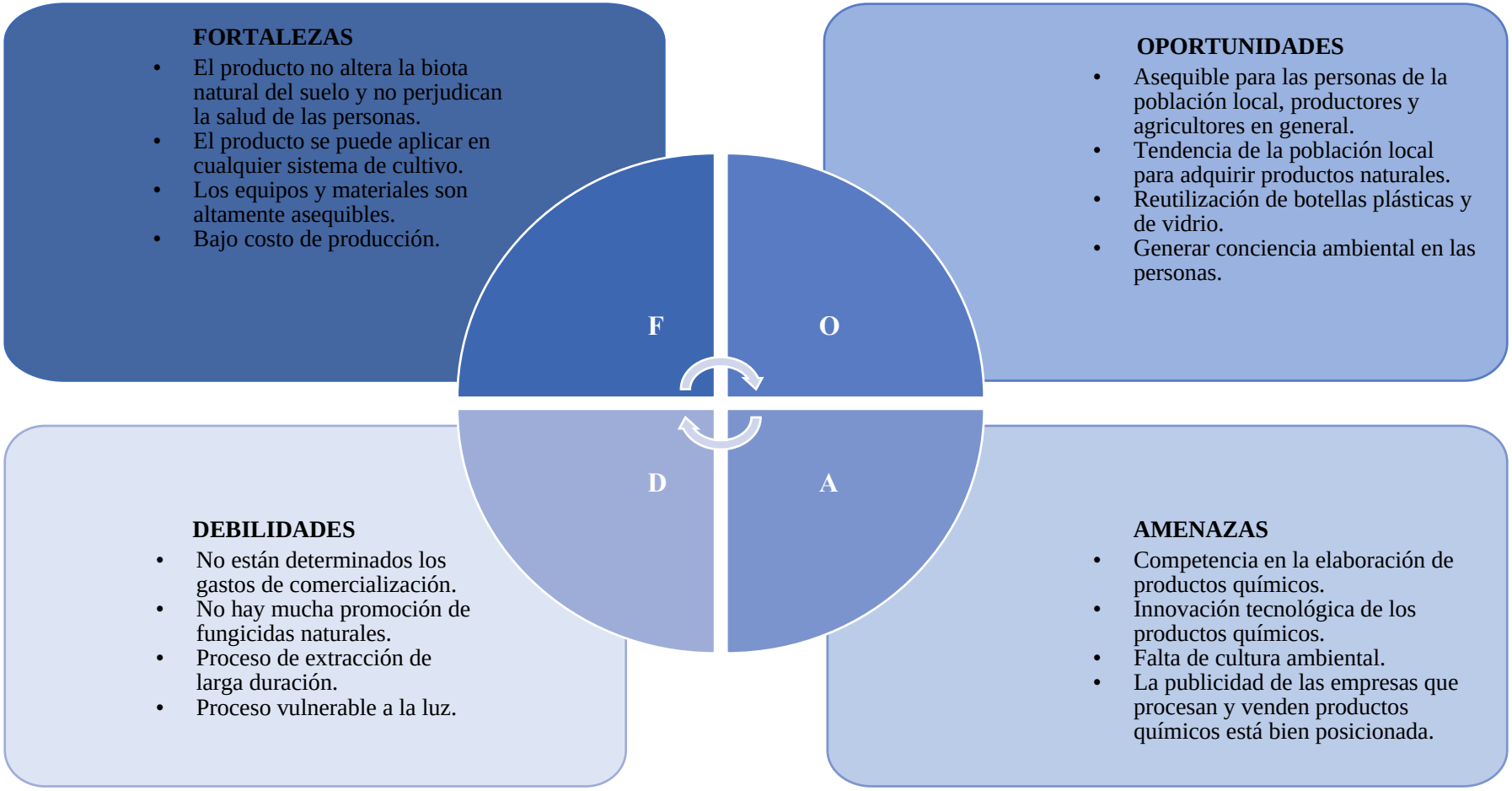

Figura 4. Matriz FODA entorno a la extracción por maceración en frío y aplicación como producto natural.

Elaborado por: El Autor.

CONCLUSIONES

- La técnica de extracción por maceración en frío es asequible para obtener extractos acuosos ricos en metabolitos secundarios de las hojas de *T. grandis* que puedan ser usados como producto ecológico en diferentes sistemas de cultivo.
- Sobre la base el análisis teórico comparativo de las cuatro técnicas más utilizadas para la extracción sólido-líquido de metabolitos secundarios presentes en las hojas de *T. grandis*, se priorizó la maceración en frío, la cual tiene mayor asequibilidad por sus materiales y equipos.
- La técnica de maceración en frío es más ventajosa desde un punto de vista técnico, operativo y de asequibilidad para el propósito que busca la investigación científica, teniendo en cuenta los pasos a realizar, que permiten asegurar una extracción eficiente con vistas a garantizarla acción antifúngica efectiva del extracto acuoso obtenido de las hojas de *T. grandis* contra los hongos fitopatógenos del suelo en diferentes sistemas de cultivo.

RECOMENDACIONES

- Adquirir el material vegetal en óptimas condiciones para su posterior pretratamiento y procesamiento.
- Emplear opcionalmente una disolución hidroalcohólica para potenciar el proceso de extracción.
- Buscar fondos de financiamiento para aplicar la técnica a gran escala y comercializar al producto natural a un costo menor que los productos químicos.

REFERENCIAS

Alves, L. (marzo de 2018). scielo.sld.cu. Obtenido de Alelopatia: el potencial de las plantas medicinales en el control de espécies espontáneas: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000100001

Buechel, T. (26 de febrero de 2020). www.pthorticulture.com. Obtenido de Perfil de agente patógeno: Sclerotium: https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/perfil-de-agente-patogeno-sclerotium/

Cárdenas, C. (diciembre de 2014). repositorio.espe.edu.ec. Obtenido de Las Plantas Alelopáticas: http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/9218/3/Las%20Plantas%20Alelopaticas.pdf

Deere, J. (13 de mayo de 2019). agriculturers.com. Obtenido de Alelopatía ¿Qué Es?: https://agriculturers.com/alelopatia-que-es/

Escalona, Y., & Rodríguez, D. (junio de 2011). dspace.uclv.edu.cu. Obtenido de Rhizoctonia solani Kühn Aislado de papa: https://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/10113

Esolano, M. (2 de diciembre de 2019). scielo.sld.cu. Obtenido de Diversidad de escolítidos en plantaciones de tectona grandis l. F. (teca) en la provincia del Guayas, Ecuador: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202019000500507

Espejo, F., & Espinoza, R. (enero de 2010). cagricola.uclv.edu.cu. Obtenido de Efecto alelopático de los extractos acuosos de Tectona grandis L. y Tagetes erecta L. sobre la germinación de cultivos de interés agrícola: http://cagricola.uclv.edu.cu/index.php/es/volumen-37-2010/numero-1-2010/367-efecto-alelopatico-de-los-extractos-acuosos-de-tectona-grandis-l-y-tagetes-erecta-l-sobre-la-germinacion-de-cultivos-de-interes-agricola

Franco, W. (Mayo de 2019). www.researchgate.net. Obtenido de El Rol De La Chakra En La Amazonia Del Futuro: Visiones Diversas: https://www.researchgate.net/publication/333430530_El_Rol_De_La_Chakra_En_La_Amazonia_Del_Futuro_Visiones_DiversaS#:~:text=La%20chakra%20Kichwa%20en%20la,de%20alimentos%2C%20plantas%20medicinales%20y

Giardini, F., & Torres, G. (marzo de 2018). scielo.sld.cu. Obtenido de Alelopatia: el potencial de las plantas medicinales en el control de espécies espontáneas: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852018000100010&script=sci_arttext&tlng=en

Gualoto, M. (septiembre de 2019). www.dspace.uce.edu.ec. Obtenido de Evaluación de resistencia de genotipos de papa: http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19847/1/T-UCE-0004-CAG-159.pdf

Shabaraya, a. r. (9 de enero de 2016). Comparación De La Actividad Antibacteriana De Extractos De Hojas De Tectona Grandis Mangifera Indica, Y Anacardio Occidentalmangifera Indica, Y Anacardio Occidentalmangifera Indica, Y

Anacardio. Revista Internacional de Investigación Farmacéutica Actual, 9(1), 36-39.

Lucena, N. (julio de 2019). tauja.ujaen.es. Obtenido de Extracción De Productos Naturales Asistida Por Ultrasonidos: http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/10191/1/TFG-%20Noelia%20Lucena%20MuNoz.pdf

Macías, A., & Carrera, F. (14 de diciembre de 2009). www.scielo.br. Obtenido de Exudados de la raiz y su relevancia actual en las interacciones alelopaticas: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000100035&script=sci_arttext

Macías, F., & Lacret, R. (noviembre de 2000). citeseerx.ist.psu.edu. Obtenido de Potencial Alelopático De La Teca (Tectona Grandis): http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.577.3847&rep=rep1&type=pdf

Maldonado, C., & Encalada, E. (15 de diciembre de 2008). dspace.uazuay.edu.ec. Obtenido de Efectos alelopáticos del tomate riñón: http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/451/1/06657.pdf

Mosquera, T. (septiembre de 2018). dspace.ups.edu.ec. Obtenido de Estandarización Fitoquímica Del Extracto De Caléndula: https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf

Pandey, D., & Brown, C. (2000). La teca: una visión global. Obtenido de www.fao.org: http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/x4565s/X4565s02.PDF (51), 1-11.

Pérez, F. (septiembre de 2017). repositorio.unu.edu.pe. Obtenido de FIsiología Vegetal: http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3201/000026081L.pdf?sequence=5&isAllowed=y

Ruiz, R. (2012). Efecto alelopático de Terminalia catappa L. sobre los hongos fitopatógenos del suelo Rhizoctonia solani Kühn y Sclerotium rolfsii Sacc. (Tesis de Doctorado). Universidad central “Marta Abreu” de las villas, santa clara (15-22).

Sampietro, A. (2003). www.produccion-animal.com.ar. Obtenido de Alelopatía: Concepto, Características,: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/19-alelopatia.pdf

Tituaña, G. (2013). repositorio.uta.edu.ec. Obtenido de 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: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8563/1/MAI%2005.pdf

Villacis, C. (21 de noviembre de 2018). repositorio.espe.edu.ec. Obtenido de estudio para la extracción y purificación de saponinas a partir del mojuelo de quinua como unaposible alternativa a la disponibilidad de tensoactivosde origen natural: http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15426/1/T-ESPEL-IPE-0018.pdf, 4-24.