

Jose Gaspar Ku Ucan

“Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (*Lippia graveolens*)” contra microorganismos fitopatógenos”

2008



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

Especialidad en Ingeniería de
Invernaderos

“Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (*Lippia graveolens*) contra microorganismos fitopatógenos”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Especialidad en Ingeniería de Invernaderos

Presenta:

José Gaspar Ku Ucan

Querétaro, Qro., Agosto de 2008



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Especialidad en Ingeniería de Invernaderos

"Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), contra microorganismos fitopatógenos"

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Especialidad en Ingeniería de Invernaderos

Presenta:
José Gaspar Ku Ucan

Dirigido por:
Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez


SINODALES

Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez.
Presidente




Firma

Dr. Ramón Gerardo Guevara González.
Secretario



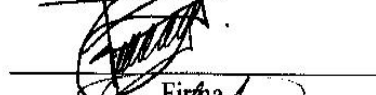
Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz.
Vocal



Firma

M. en C. Fidel Landeros Jaime.
Suplente

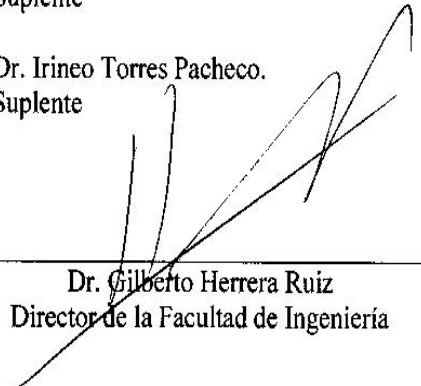


Firma

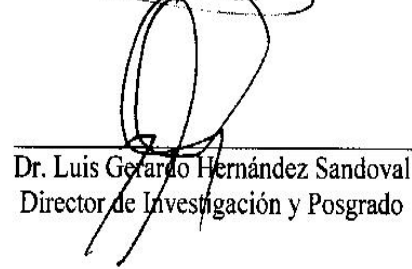
Dr. Irineo Torres Pacheco.
Suplente



Firma



Dr. Gilberto Herrera Ruiz
Director de la Facultad de Ingeniería



Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro., Agosto, 2008
México

RESUMEN

Las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas en el control de diferentes enfermedades de productos hortícolas. Una de estas especies potenciales es el orégano (*Lippia graveolens*), el cual, crece de manera silvestre en casi toda la República Mexicana. Los pobladores de éstas zonas lo recolectan en los meses de Agosto a Septiembre y lo venden, significando un ingreso importante en esta época del año. Actualmente algunos grupos de oreganeros se encuentran organizados para el acopio de ésta y otras especies no maderables; cuentan con infraestructura para procesar la planta y producir aceite esencial. Sin embargo, se buscan opciones para continuar dándole valor agregado a esta especie. En el presente trabajo se evaluaron *in vitro* diferentes extractos de orégano sobre el crecimiento, de *Xanthomona campestris*, *Cladosporium cladosporoide* y *Aspergillus niger*, especies que atacan diversos cultivos de hortalizas, entre ellos al jitomate. Se utilizaron hojas secas de *Lippia graveolens* (orégano) de las poblaciones silvestres del Municipio de Peñamiller, Qro., proporcionadas por la Asociación “Semidesierto de Peñamiller, ARIC”. El extracto total se obtuvo por el método de presurizado, el aceite esencial y las aguas madres por hidrodestilación.

Esta investigación consto de dos fases, la primera evaluando todos los extractos de orégano (*Lippia graveolens*), a concentración del 50% y la segunda determinando la concentración mínima inhibitoria de los extractos mas efectivos de la fase uno.

Palabra clave: *Lippia graveolens*, extractos totales, aguas madre y aceite esencial de oregano.

ABSTRACT

Plants produce compounds with antimicrobial properties that can be used in the control of diseases in horticultural crops. One of these plants is oregano (*Lippia graveolens*), which grows wild in most of the Mexican Republic. The oregano is harvested for sale during August and September, meaning an important money entry for local people during that period of the year. In this work, different extracts of oregano were evaluated *in vitro* on the growth, sporulation, and germination of *Xanthomonas*, *Cladosporium* and *Aspergillum*, fungus species that attack different horticultural crops, including tomato. Dry leaves of *Lippia graveolens* (oregano) from plant populations in the municipality of Peñamiller, Queretaro, were used. Total extract was obtained using the pressurized method, while the essential oil and stock water solution was obtained by hydro-distillation. This research consisted of two phases. In the first one, all the extracts of oregano were evaluated at a 50% concentration, and during the second one the minimum inhibiting concentration of the most effective extracts from phase one was determined.

Key words: *Lippia graveolens*, oregano oil extract, disease control.

Dedicatorias

A Dios que me dio el don de la sabiduría, el entendimiento para culminar los estudios de la Especialidad en Ingeniería de Invernaderos y la fortaleza para enfrentar cada día.

A mis padres por su respaldo, dedicación y comprensión, en especial a mi madre por su lucha y entrega. A mis hermanos por todo su apoyo, esfuerzo y confianza.

A mis amigos quienes siempre estuvieron a mi lado para compartir mis sueños y hacerlos realidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez. por su sincera confianza, dedicación y guía permanente en el desarrollo de la presente investigación.

A los doctores Dr. Ramón Gerardo Guevara González. Dr. Irineo Torres Pacheco, por su apoyo, sus valiosos conocimientos, enseñanzas y sugerencias como jurados.

A la Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz, quien me apoyo para llevar acabo las extracciones del aceite y las aguas madre en el laboratorio de la Facultad de Química y a sus alumnas de Maestría, Fanny Yaquelin, Alma y Mariela, por su colaboraron durante todo el proceso de este trabajo.

Al M. en C. Fidel Landeros Jaime y Kruskaia Kaltzonsin de la Facultad de Ciencias Naturales (UAQ), por su apoyo en proporcionarnos las cepas de hongos y bacterias fitopógenas y durante el proceso de la Investigación.

A los miembros de “Semidesierto de Peñamiller, ARIC” por proporcionarnos la hoja de orégano, materia prima para esta investigación.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Quintana Roo (COQCYT) y a la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) por el apoyo económico para mi estancia durante la Especialidad y para el desarrollo de ésta investigación. A todos los maestros y doctores que me dieron clases y agradecerles por sus enseñanzas y el gran impulso que me brindaron incondicionalmente para llevar a cabo mis objetivos personales y académicos.

Al Dr. Enrique Rico García y Ing. Adán Mercado Luna de la Especialidad de Ingeniería de Invernaderos, debo agradecerles por su gran amistad, los muchos momentos compartidos y el apoyo en la parte académica..

A mis amigos de la Especialidad de Ingeniería de Invernadero, en especial a Lucero de Belen silva Arrollo y agradecerle a Nancy Margarita tierranegra, Fidel Antonio Balan Castillo y Victor Eduardo Casanova Villareal, que siempre estuvieron a mi lado en momentos de felicidad y en aquellas circunstancias en que se necesita alguien especial que te brinde apoyo y comprensión, así que sin ustedes nada hubiese sido igual.

INDICE

	Paginas
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE CUADROS.....	ix
RESUMEN.....	x
I. INTRODUCCION.....	2
II. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivo Especifico.....	3
2.3 Hipótesis.....	3
III. ANTECEDENTES.....	4
3.1 Producción Internacional y nacional del orégano.....	4
3.1.1 Producción nacional.....	4
3.2 Uso de orégano.....	5
3.2.1 Industria alimenticia	5
3.2.2 Farmacéutico.....	6
3.2.3 Potencial Antimicrobiano.....	6
3.3 Características generales del orégano (<i>Lippia graveolens</i>).....	6
3.3.1 Taxonomía.....	7
3.3.2 Distribución del orégano.....	8
3.3.3 Cultivo	9
3.4 Agricultura Orgánica y el control de plagas y enfermedades.....	10
3.4.1 Agricultura Orgánica.....	12
3.4.2 Métodos de control orgánico de plagas y enfermedades....	13
3.5 Producción Internacional de Jitomate.....	19
3.5.1 Producción Nacional de Jitomate.....	20
3.5.2 Producción en el Estado de Queretaro de Jitomate.....	22
3.6 Características generales del Jitomate.....	24
3.6.1 Origen.....	24
3.6.2 Taxonomía.....	24
3.6.3 Morfología.....	24
3.7 Plagas y Enfermedades del Jitomate.....	27
3.7.1 Plagas.....	27
3.7.2 Enfermedades.....	38
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
4.1 Ubicación del Estudio.....	47
4.2 Material biológico.....	48
4.2.1 Vegetal.....	48
4.2.2 Patógeno.....	48

4.3 Extractos vegetales.....	49
4.3.1 Extracto total.....	49
4.3.2 Aceite esencial.....	51
4.3.3 Aguas Madre.....	52
4.4 Pruebas de inhibición.....	52
4.5 Cuantificación de fenoles y flavonoides.....	56
4.5.1 Fenoles.....	56
4.5.2 Flavonoides.....	56
4.6 Diseño Experimental.....	56
4.7 Análisis de resultados.....	56
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
5.1 Extractos vegetales.....	48
5.1.1 Extracto total.....	48
5.1.2 Aceite esencial.....	57
5.1.3 Aguas Madre.....	58
5.2 Pruebas de inhibición.....	59
5.3 Fenoles y Flavonoides.....	61
5.4 Resultados de la Evaluación del crecimiento del hongo fitopatogeno <i>Aspergillus niger</i> en diferentes extractos.....	62
VI. CONCLUSIONES.....	66
LITERATURA CITADA	68
ANEXOS.....	72

INDICE DE FIGURAS	Paginas
Figura 3.1 Producción agrícola en el Estado de Querétaro (SEDEA, 2007).....	7
Figura 3.2 Superficie cultivada de hortalizas en Querétaro en el 2006.....	8
Figura 3.3 Planta de jitomate de la variedad (Cimabue), indeterminada cultivada en el invernadero del Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería.....	10
Figura 3.4 Araña roja (<i>Tetranychus unticae</i>) en fase adulta, sobre una hoja de jitomate.....	13
Figura 3.5 Estados de desarrollo de la mosquita blanca (Gómez, 2006). a) huevo,b) larva, c) crecimiento de la larva, d) adulto sobre una hoja de jitomate.....	15
Figura 3.6 Hoja de jitomate con daño ocasionado por el minador. Foto : López y Gastélum, 2003.....	17
Figura 3.7 Pulgones más abundantes en los invernaderos. Foto: InfoAgro, 2007.....	18
Figura 3.8 Hembra de trips adulto. Foto: Biobest, 2006.....	20
Figura 3.9 Daños causados por el hongo Oidiopsis. Foto: Wikipedia 2006.....	23
Figura 3.10 En los tallos se aprecia el daño en los nudos, en las heridas de poda,.....	24
Figura 3.11 daño causado por Podredumbre de raíces del tomate. Foto: Infojardin, 2001.....	26
Figura 3.12 Daño causado por el Mildiu. Foto: Agraria, 2004.....	27
Figura 3.13 Daño en hoja de jitomate provocado por <i>Alternaria solani</i> . Foto:.....	29
Figura 4.1 Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro.....	39
Figura 4.2 Planta de orégano (<i>Lippia graveolens</i>) en floración.....	39
Figura 4.3 Procedimiento para obtener extracto total de orégano a partir del método de Presurizado.....	41
Figura 4.4 Método de hidrodestilación para la obtención de aceites esenciales y aguas madre.....	42
Figura 4.5 Separación de las aguas madre de orégano del proceso de hidrodestilación.....	43

Figura 4.6 Proceso de elaboración de la concentración a utilizar para la siembra de hongos.....	44
Figura 4.7 la solución del extracto se vertió en todas las cajas petri donde se hará la siembra.....	45
Figura 4.8 proceso de siembra, sellado y en cubacion de los tratamientos de los hongos.....	46
Figura 5.1 Envasado y medición del extracto total de orégano obtenido por el método de presurizado.....	48
Figura 5.2 Obtención del aceite de orégano por el método de hidrodestilacion.....	49
Figura 5.3 Colado de las aguas madre y envasado.....	50
Figura 5.4 comparacion del crecimiento del hongo con el extracto de aceite y el testigo.....	52

INDICE DE CUADROS	Paginas
Cuadro 3.1 Principales países productores de jitomate en el año 2003 (SAGARPA, 2004; FAO, 2004).....	4
Cuadro 3.2 Principales plagas de jitomate (InfoAgro, 2007).....	12
Cuadro 3.3 Principales enfermedades del jitomate (William y Vera, 2003).....	22
Cuadro 3.4 Uso de extractos vegetales en el control de plagas y enfermedades.....	35
Cuadro 5.1 Crecimiento del hongo <i>Aspergillum</i> durante los tres días después de la aplicación de los tratamientos.....	51
Cuadro 5.2 Análisis de varianza del crecimiento del hongo (<i>Aspergillus niger</i>), En diferentes días de crecimiento.....	51
Cuadro 5.3 Crecimiento de la Bacteria (<i>Xanthomona</i>) durante los tres días después de la aplicación de los tratamientos.....	52
Cuadro 5.4 Contenido total de fenoles y flavonoides de los extractos de orégano.....	53
Cuadro: 5.5. Cálculo de medias y desviación estándar del crecimiento del hongo (<i>Aspergillus niger</i>), En diferentes días de crecimiento.....	54
Cuadro 5.6 Resultados obtenidos de Análisis estadístico mediante la prueba de Tukey con un alpha de $p < 0.05$ de los 3 extractos que se aplicaron al hongo para la inhibición del crecimiento.....	54
Cuadro 5.7 Duración del crecimiento del hongo <i>Aspergillum</i> durante tres días con la aplicación de los diferentes extractos.....	55
Cuadro 5.8 crecimiento de <i>Aspergillum</i> en cajas petri después de la aplicación de los tratamientos Amazcala 2008.....	55
Cuadro 5.9 crecimiento de <i>Cladosporium cladosporoide</i> , en cajas petri después de la aplicación de los tratamientos Amazcala 2008.	
Cuadro 5.10 Resultados obtenidos de Análisis estadístico mediante la prueba de Tukey con un alpha de $p < 0.05$ de los 3 extractos que se aplicaron al hongo para la inhibición del crecimiento.	

I. INTRODUCCIÓN

La importancia de los invernaderos En México, el invernadero es siempre una inversión rentable, tiene como desventaja su alto costo inicial pero se controlan más las plagas, ahorran agua y cuesta menos producir, se calcula que en 6 o 7 años se recupera el costo inicial y las ganancias son altas, además de que el monto de la inversión se amortiza. Los invernaderos se pueden clasificar de distintas formas, según determinadas características de sus elementos constructivos (por su perfil externo, según su fijación o movilidad, por el material de cubierta, según el material de la estructura, etcétera) pero en realidad todos cumplen con la misma función. El uso de invernaderos en México está muy extendido. Dependiendo del mercado y del tipo de fruto o flor, los principales estados y regiones que lo utilizan son: Sinaloa, Baja California, el Bajío, centro y sur del país, aunque en lugares calientes requiere de otro tipo de estructura llamado cubierto malla sombra. Los invernaderos pueden establecerse prácticamente donde sea, puesto que se han diseñado hasta enriquecimientos de suelo.

Los productos que más se producen bajo condiciones del invernadero en México son el jitomate cereza, el tomate, el pepino europeo, el pimiento dulce y las berenjenas. El costo aproximado de un invernadero en México va de los 160 a los 240 pesos el metro cuadrado y hay algunos planes de empresas que venden el material y asesoran la autoconstrucción hecha por los agricultores.

La producción bajo invernadero se basa principalmente en el uso de agroquímicos siendo los pesticidas un insumo importante. Los plaguicidas han adquirido un papel preponderante en la protección de cultivos contra plagas y enfermedades debidos en gran parte al fuerte apoyo que recibió la investigación y desarrollo de la industria agroquímica, con un gran auge a partir de los sesentas con la mal llamada Revolución Verde. Sin embargo, el empleo intensivo (y a veces desmedido) de productos químicos ha tenido efectos negativos sobre el ambiente y la calidad de vida de las poblaciones humanas. Su eficacia puede ser de corta duración, ya que pueden provocar resistencia de algunas poblaciones de plagas y patógenos. Asimismo, estos productos se pueden acumular en los alimentos, suelos y aguas si no se respetan las dosis, intervalos de seguridad y los productos aprobados para un cultivo, lo

cual ocurre con gran frecuencia y estos residuos terminan en los alimentos que adquiere el consumidor provocando problemas de salud, como cáncer, enfermedades cardíacas, dolores gastrointestinales, etc. (Carreón *et al.*, 2007).

Ante esta problemática se han buscado opciones de producción de alimentos que garanticen la obtención de productos inocuos, siendo la agricultura orgánica una de ellas. Este sistema de producción no utiliza productos de síntesis química, se basa en lograr un cierto nivel de equilibrio entre todos los organismos del sistema: plantas, animales y múltiples microorganismos. En el manejo de plagas y enfermedades, la producción orgánica busca favorecer los mecanismos de defensa que los organismos vivos poseen de manera natural, siendo la diversidad un pilar fundamental para obtener y mantener este equilibrio. Además lleva a cabo el control por medio de agentes biológicos, microbiales y con el uso de extractos de origen vegetal. El uso de extractos es cada vez más aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos deletéreos para la salud y el ambiente. Basándose en los usos populares de las plantas medicinales de la región se pueden identificar recursos botánicos con potencial. Sin embargo, hace falta investigación en este campo que permita enriquecer esta línea como una opción en el control de plagas y enfermedades a nivel comercial.

Una de estas especies potenciales es el orégano (*Lippia graveolens*), el cual, es una especie que crece en casi toda la República Mexicana en las zonas semiáridas del país. Los pobladores de éstas zonas la recolectan en los meses de Agosto a Septiembre y la venden, significando un ingreso importante en esta época del año. Actualmente en el país, existen diferentes grupos de oreganeros que ya se encuentran organizados y que comercializan la hoja de manera conjunta. Además, algunos de éstos grupos ya cuentan con maquinaria e instalaciones para obtener aceite esencial como un subproducto por lo cual nace el interés de evaluar las propiedades de este aceite y de las aguas que se obtienen como parte del proceso de destilación (aguas madre), en el control de enfermedades importantes del cultivo de jitomate bajo invernadero, necesidad a la cual responde la presente investigación.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Control *in vitro* de microorganismos fitopatógenos con la aplicación de extractos de orégano (*Lippia graveolens*).

2.2 OBJETIVO ESPECIFICO

- Cuantificar flavonoides y fenoles de diferentes extractos de orégano (*Lippia graveolens*).
- Evaluar *in vitro* la actividad anti microbiana de los diferentes extractos de *Lippia graveolens* en diferentes concentraciones.

2.3 HIPOTESIS

Los extractos de orégano por su contenido en metabolitos secundarios, inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos fitopatógenos.

III. ANTECEDENTES

3.1 Producción internacional y nacional de orégano.

El orégano del género *Origanum* (europeo), se extrae generalmente de plantaciones comerciales bien establecidas, mientras que el mexicano se obtiene de poblaciones silvestres de casi todo el territorio nacional sin ningún plan de manejo. Es importante considerar que las especies mexicanas de orégano se caracterizan por ser plantas que crecen principalmente en climas secos y las especies europeas crecen en climas mediterráneos. Las condiciones ambientales donde habitan estas especies, se reflejan en la cantidad y composición de sus aceites esenciales, de tal forma que al orégano mexicano (*Lippia graveolens* y *L. palmeri*) la American Spice Trade Association (ASTA) lo describe como un orégano con un sabor mucho más fuerte, con hojas más largas y con un mayor contenido de aceites esenciales (3-4%), en comparación con el del mediterráneo (especies de *Origanum*) que provienen de Grecia, Turquía o Albania que contienen entre 2-2.5% (Oliver, 1996).

3.1.1 Producción nacional.

El volumen de la producción en México ha llegado a ser de 2559 ton (en 1989), lo que representó un valor monetario de 3.2 millones de dólares, aunque este volumen ha fluctuado en otros años entre 1100 y 1800 ton anuales, lo que representa un valor comercial de 1 a 2 millones de dólares, dependiendo de las fluctuaciones en el precio en el mercado.

Cavazos (1991) señala que el pastoreo y la cosecha intensa pueden afectar negativamente la producción de hojas, pues las mayores cosechas se presentan en sitios con un pastoreo moderado. El pastoreo puede tener efectos negativos en su hábitat o afectar directamente la estructura de edades de esta especie (Martínez, 1991).

Se estima que en 2002, las exportaciones de orégano seco no manufacturado con destino a los Estados Unidos fue de 6'648,313 kilogramos; México participó con una cantidad de 2'143,377, sólo por debajo de Turquía. El costo promedio de la hoja seca de orégano por kilo es de 8.00 a 9.00 pesos. Durante la cosecha 2002, productores del semidesierto de Querétaro lo vendieron hasta en 11.00 pesos, el precio históricamente más alto Pagado a colectores de orégano en México.

3.2 Usos del orégano.

Carlos Huerta (2006), menciona que la mayoría de las especies de orégano poseen notables propiedades medicinales, que se explican por la extraordinaria y compleja composición química que tienen estas plantas. En la práctica terapéutica (herbolaria) las especies de orégano europeas (*Origanum* spp) y las mexicanas (*Lippia* spp) se administran para las mismas dolencias.

Las hojas y los tallos del orégano contienen aceite esencial, sustancias tónicas, un principio amargo, goma-resina, entre otras; la esencia tiene como componentes principales, el carvacrol y también contiene timol, alfa-pineno, cimeno, levógiro, terpenos, principalmente. Estos elementos le dan propiedades tónicas: amargo-exitante, antisépticas, expectorantes, diuréticas y sudoríficas; también se le considera un producto duradero de consumo final, ya que una vez deshidratado conserva sus propiedades y no sufre descomposición. En base a sus propiedades, en México se usa además de condimentador de alimentos, como medicina popular en forma de infusiones para tos, cólicos, padecimientos de los riñones, fiebre y enfermedades de las vías respiratorias (Martínez, 1959; Ramayo y Herrera, 1976 y CONASUPO, 1985).

3.2.1 Industria alimenticia.

El orégano se utiliza en la preparación de alimentos frescos como: guisados (adobo, pipián), sopas, estofados de carnes, platillos típicos (pozole, menudo, chilpozonte, callos, barbacoa, etc.), pizzas y otras comidas italianas, fabada asturiana, caldo gallego, etc. A la mezcla del orégano con el laurel y el tomillo se le conoce popularmente como "hierbas de olor", y se incorpora a infinidad de platillos. En alimentos enlatados se utiliza el orégano en productos como el salmón, atún, sardinas, abulón, etc. También se añade industrialmente a salsa, aderezos, aceitunas, encurtidos, chiles en escabeche, polvos y pastas para sazonar, quesos, sopas precocidas, frijoles envasados, moles para rehidratar, etcétera.

3.2.2 Farmacéutico.

(*Lippia berlandieri Schauer* y *Lippia palmeri Watson*) Parte utilizada: Hojas frescas y secas. Forma de preparación: Infusión acuosa, 0.5%. Aplicaciones: Antiasmático (control del asma); antiespasmódico (alivio de cólicos); antitusígeno (control de la tos y del asma); antihelmíntico (contra lombrices, en mezcla con hierbabuena y tomillo); anti infeccioso (acción específicamente contra *Staphylococcus aureus*); emenagogo (regulador de la menstruación); fungicida (acción contra *Candida albicans*).

3.2.3 Potencial Antimicrobiano.

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gran negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gran positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*). Tienen además capacidad antifungicida contra *Cándida albicans*, *C.tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*; pero no contra *Pseudomona aeruginosa*. Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial. Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gran negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol más activo. Otros compuestos, como el g-terpineno y r-cimeno no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales se han establecido entre 0.28-1.27 mg/ml para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/ml para hongos (Arcila- Lozano, 2004).

3.3 Características generales del orégano (*Lippia graveolens*).

El Oregano habita en climas secos y semisecos sobre lomeríos rocosos, valles, arroyos, en chaparrales, en matorrales desérticos y mesas, se distribuye desde Texas a Nuevo México en los Estados Unidos, así como en México y Centro América (Correl y Johnston, 1970; Martín y Hutchins, 1981).

Martínez (1979), menciona que la distribución del orégano en la república Mexicana ocurre en los estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Zacatecas, Puebla, Querétaro, Tamaulipas, Oaxaca y Sinaloa.

Cavazos (1991), comenta que los sitios de orégano, el suelo tiene de 5 a 35 cm de profundidad con una textura franco arenosa (50-60 %, 20-30% limo, 10-20 % de arcilla), el PH varía de 5.8 a 6.5, la conductividad eléctrica de 0.3 a 0.4 mmhos/cm.

Así también García (1973), encontró que en las altitudes de 1400 a 1600 msnm, es donde se encuentra la mayor parte del orégano, en suelos de superficie pedregosa, delgados fértiles, ligeramente alcalinos con un ph de 7.3 a 7.6; con clima seco semicálido y precipitaciones no mayores a los 300 mm de promedio anual en verano; con heladas que ocurren con más frecuencia de entre mediados de octubre a marzo.

3.3.1 Taxonomía.

Con el nombre de orégano se conocen a dos grandes grupos: el orégano mediterráneo o europeo y el mexicano. El primero proviene de diversas especies del género *Origanum vulgare* subs. *hirtum* (orégano griego) y *O. vulgare* subs. *gracile* (oregano turco). El orégano mexicano proviene de dos especies de la Familia Verbenaceae: *Lippia palmeri* y principalmente de *L. graveolens* (Huerta, 1997).

Según Semarnat (2001) la taxonomía del orégano mexicano es:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsidae

Orden: Lamiales

Familia: Verbenaceae

Esta planta es un arbusto caducifolio, muy ramificado, que generalmente llega a alcanzar hasta 2.50 m, de altura y 1.20 m, de diámetro de cobertura foliar; aunque en la generalidad de los casos, las poblaciones silvestres bajo aprovechamiento miden de 0.70 a 1.20 m, de altura y de 0.30 a 0.80 m, de diámetro de cobertura, esto dependiendo de las condiciones específicas de desarrollo y de la edad de la planta (Martínez et al, 1984).

Raíz. La temperatura óptima de nodulación es de 25°C, dando lugar a la formación de microorganismos que provocan la formación de nódulos en la raíz, por medio de las cuales se realiza el proceso de nitrificación, los primeros nódulos se forman 9 días después de la germinación y a los 3 semana empieza la fijación del nitrógeno atmosférico.

Tallo. La longitud de los tallos es variable, dependiendo de la edad y de las condiciones del hábitat, principalmente de la distribución y cantidad de lluvia a lo largo del año. La velocidad de crecimiento en altura de los tallos, es menor que la velocidad de crecimiento de los brotes anuales; quienes dan origen a ramas, hojas, flores y frutos.

Hojas. La producción de follaje de las poblaciones naturales de oregano, se inicia dos semanas después de presentarse las primeras lluvias de temporal, concluyéndose la formación total de follaje unas seis semanas después de haberse iniciado los brotes vegetativos (Martínez, 1990).

Flores. La floración se inicia unas 7 semanas después de haberse iniciado la formación del follaje, produciéndose una excesiva cantidad de flores, las cuales solamente llegan a la madurez el 65%, dentro de las condiciones normales de crecimiento, sus flores tienen la característica de presentar el fenómeno de autopolinización el polen cae sobre el estigma produciéndose la fertilización antes que la flor está regulada por el fotoperiodo, la temperatura, los elementos nutritivos, las condiciones físicas del suelo y el agua.

Fruto. La capsula se empieza a formar de 15 a 20 días después de la floración, posteriormente se madura coincidiendo esta con el amarillamiento y caída de las hojas, por lo que la capsula se abre y expulsa la semilla, variando el periodo de acuerdo a la zona ecológica.

3.3.2 Distribución del orégano.

El orégano presenta una amplia distribución, principalmente en las zonas centrales, occidentales y norte del país (Ruiz, 1985). Datos específicos de inventario sobre potencial existente por región se desconocen prácticamente en su totalidad, esto debido a la falta de metodología para su evaluación; sólo se cuenta con información preliminar sobre su distribución a nivel de regiones. Así se tiene que Martínez (1959), proporciona datos muy generales de la distribución del género *Lippia spp*; menciona que *Lippia berlandieri* Shower existe de Jalisco a Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca y Sinaloa; *Lippia palmeri* Wast, en Baja California, Sonora y Sinaloa; también reporta la existencia de *Lippia germinuta* H.B.K, en Sinaloa, Tamaulipas y Oaxaca.

3.3.3 Cultivo.

Las recomendaciones para establecer esta especie como cultivo son las siguientes según Vázquez (2006).

- **Preparación del terreno**

La preparación del terreno recomendada consiste en rastra, nivelación, fertilización (en caso que se realice, se debe aplicar todo el fósforo y la mitad del nitrógeno al inicio y la otra mitad de nitrógeno aproximadamente un mes después) y surcado.

- **Transplante**

Se recomienda realizarlo cuando la planta logra una altura aproximada de 15 cm y que es aproximadamente a los 65-70 días después de la siembra, se debe plantar a una distancia entre plantas de 0.5 m y a una distancia de entre surcos de 0.8 m esto es opcional porque depende de la apertura de la maquinaria; se debe después de la preparación del suelo utilizando el método tradicional, que consiste en sacar la planta de la charola de poliestireno y plantándola con todo y cepellón, aplicando un riego en el transplante y otro al tercer día, que si se tiene cuidado con la plantación y con la aplicación del agua de riego oportuna se logra un prendimiento del 100%, y en caso de no resultar así se recomienda transplantar antes del primer riego de auxilio que es aproximadamente un mes después del transplante, utilizando planta con cepellón, en bolsa de hule de 8 cm de ancho por 20 cm de alto.

- **Riego**

El primer riego es al momento del transplante repitiéndolo al tercer día, posteriormente se da otro riego de auxilio 20 días después siendo el último, ya que se debe plantar cerca de la época de lluvias.

- **Labores de cultivo**

Las practicas culturas (deshierbes, aporques, etc) de deben realizar por dos ocasiones, la primera cuando se ponga el suelo bueno para trabajar después del segundo riego del transplante, teniendo cuidado de no lastimar la planta; la segunda se realizará cuando la tierra esté buena para trabajar después del primer riego de auxilio que es aproximadamente un mes después del transplante.

- **Plagas y enfermedades**

Las principales plagas y enfermedades que atacan al cultivo de orégano son los siguientes: Mosquita blanca (*Bemisia spp*), Gallina Ciega (*Phyllophaga spp*), Barrenador de Ramas (*Coleoptera: Chrysomelidae*), Chinche Negra y las enfermedades son: Tizón (*Alternaria sp.*), Secadera Temprana (*Rizocthonia sp*, *Fusarium sp*, *Phytophthora sp*, *Pythium sp.*).

- **Compuestos fenólicos presentes en el orégano**

Existen diversos estudios sobre la composición química del orégano, de extractos acuosos y aceites esenciales (Pascual et al., 2001). Se ha identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (Justasen y Knuthsen, 2001).

En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina (Wagner y Elmadfa, 2003; Hutchings y van Staden, 1994; Pascual et al, 2001).

Los aceites esenciales de orégano, pueden ser usados como sustitutos de fungicidas químicos, ya que son inocuos y biodegradables. Existe una relación entre el incremento de la concentración del aceite esencial y la inhibición en la producción de aflatoxinas, por lo que se deben aumentar las dosis de los aceites esenciales probados, asegurando niveles de aflatoxinas permitidos para el consumo humano (Oliver 1996).

Moreno-Lara y colaboradores (2006), evaluaron los aceites esenciales de canela (*Cinnamomun zylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) para determinar su actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Ambos aceites presentaron actividad antifúngica *in vitro*. También se ha encontrado actividad antifúngica del aceite esencial contra el hongo filamentoso *Phymatotrichopsis omnivora*, causal de la pudrición texana, el cual se aisló de la cepa de *P. onnivora* de un cultivo de pistachero infectado y por medio de inhibición del crecimiento radial, se evaluó el efecto antagónico de dos aceites esenciales de orégano (*Lippia berlandieri Schauer*) y (*Origanum vulgare*), así como tres fracciones del mismo contra el hongo aislado. Se utilizaron seis concentraciones de las cuales las que demostraron que tuvieron inhibición fueron las de 50 y 100 ppm teniendo una disminución considerable en el crecimiento (Galván, 2000).

Se ha evaluado la capacidad antimicrobiana de extractos de diferentes polaridades a partir de bagazo (material de desecho de la extracción del aceite esencial) de orégano mexicano (*Lippia berlandieri Schauer*) contra patógenos de origen alimentario. Los extractos se obtuvieron por medio de extracción sólido-líquido en alcohol, acetona y hexano. El extracto con mayor efecto antimicrobiano fue el alcohólico, seguido por el acetónico y finalmente el hexánico. El micro organismo sobre el cual tuvieron mas efecto fue sobre *Bacillus cereus* (CMI Y CMB para alcohol y acetona >250). Se evaluaron también las actividades anti microbianas del oregano mexicano en polvo y de 5 fracciones de sus aceites esenciales contra hongos responsables de la descomposición de productos panaderos, los hongos se inocularon en medio de PDA adicionado con 0.25,0.5, 1.0, 2.0, y 4.0% de extracto de orégano, todos los mohos fueron inhibidos en presencia del aceite esencial con una concentración de 10 ml de cada fracción (Ruis, 2001).

Se evaluó el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) para el control de enfermedades en hortalizas, como fueron el chile, tomate, melón y sandia, las cepas de hongos patogénicos se aislaron, y se observaron su comportamiento en laboratorio bajo la aplicación de aceites. En la extracción del aceite esencial de orégano el porcentaje de recuperación fue de 2.5 a 3%, se pusieron cuatro repeticiones, para el aceite esencial de oregano (200ppm), testigo comercial (Captan 2.0 Kg/ha), alcohol (20ml/lit) y testigo absoluto. Se encontró. Que el aceite y el testigo tuvieron mayor inhibición del crecimiento del hongo (*Fusarium* y *Alternaria*), observándose una inhibición del crecimiento y muerte del micelio (Iracheta, 2000).

Se evaluó la susceptibilidad de *A. obtectus* a la acción de cuatro fracciones de orégano con diferente contenido de timol y carvacrol. En un bioensayo en cajas de petri todas las fracciones de aceites esenciales de orégano causaron una mortalidad mayor de 85%, excepto la fracción 5 a concentraciones bajas, cuya actividad nunca rebaso una mortalidad de 88% de acuerdo con la información obtenida, es posible que las fracciones del aceite de orégano estén actuando como un veneno con actividad ovicida (Guigón, 2003).

3.4 Agricultura orgánica y el control de plagas y enfermedades.

3.4.1 Agricultura orgánica.

El término orgánico es referido no al tipo de insumos empleados sino al concepto de agricultura como un organismo, en la cual todas las partes que la componen (el suelo mineral, el agua, materia orgánica, microorganismos, insectos, plantas, animales y humanos), interactúan para formar un todo coherente, es decir un sistema biológico (Lauzardo, 2007).

La agricultura orgánica también conocida como ecológica o biológica, es un sistema de producción de alimentos tanto frescos como procesados, derivados de plantas y animales, que evita el uso de productos de síntesis química, como fertilizantes, insecticidas, herbicidas, hormonas, reguladores de crecimiento en plantas y animales, así como edulcorantes y conservadores sintéticos en los productos transformados, que puedan causar contaminación de alimentos o del ecosistema (Lauzardo, 2007). Según Rustom y colaboradores (2003), los objetivos de la agricultura orgánica son los siguientes:

- Producir alimentos de alta calidad nutritiva y en suficiente cantidad. Proteger y restaurar los procesos de los ecosistemas, que garanticen la fertilidad natural del suelo y la sostenibilidad y permanencia del mismo.
- Aprovechar racionalmente los recursos locales, reduciendo al mínimo la dependencia externa. Evitar todas las formas de contaminación que puedan resultar de la técnica agrícola. Reducir al mínimo el derroche de energía en la producción agrícola y pecuaria. Mantener la diversidad genética del sistema agrícola y su entorno, incluyendo la protección del hábitat natural de plantas y animales silvestres.
- Garantizar la independencia y gestión en la unidad productiva, tanto alimenticia como económica. Garantizar al consumidor el suministro de alimentos tanto en calidad como cantidad. Generar fuentes de trabajo y fomentar la calidad de vida en el medio rural. Dicho sistema se caracteriza por utilizar insumos naturales, control mecánico y biológico de plagas y malezas, prácticas de labranza y conservación de suelos entre otras, manteniendo un alto reciclaje de los materiales empleados, sin presentar residualidad tóxica tanto en los productos obtenidos, como en el almacén, embalaje, envase y etiquetado.

En México, ante un sector rural impactado por condiciones meteorológicas, económicas y sociales, y un deterioro creciente de los recursos naturales, se han emprendido acciones productivas plenamente armonizadas con el medio ambiente, como es, entre otras, el desarrollo de la agricultura orgánica; en la que ya se produce una diversidad de productos orgánicos certificados, mismos que actualmente tienen como destino principal el mercado exterior y a los cuales se paga un sobreprecio entre 20 y 40% en promedio, en relación con los precios de los productos convencionales; por lo que la concepción de desarrollar la agricultura orgánica presenta un gran potencial exportador (Camarillo, 2006).

Lamas y colaboradores (2005) mencionan que los principales problemas a los que se enfrenta la agricultura orgánica son:

- Falta de apoyos a la investigación para que se atiendan las necesidades reales de los productores insertos en esta corriente productiva. La investigación facilitaría el desarrollo de la agricultura orgánica del país.
- No existe suficiente número de investigadores y técnicos formados bajo la óptica de agricultura orgánica.
- Falta de tecnologías apropiadas y capacitación. Actualmente los productores siguen las prácticas de ensayo y error debido a que no existen técnicas perfectamente desarrolladas para puntos específicos del proceso de producción de orgánicos.

3.4.2 Métodos de control orgánico de plagas y enfermedades.

Existe una tendencia mundial por utilizar alternativas de manejo sano de la agricultura, que garanticen sustentabilidad, seguridad ambiental y calidad en los productos alimenticios. Lo ideal para el control de enfermedades en plantas, sería reemplazar a los agro tóxicos por plaguicidas naturales, no agresivos a la naturaleza, los resultados de la investigación indican que no siempre esto es factible, y que hay un gran trecho por recorrer hasta poder recomendarlos. Sin embargo, en los últimos años se han explorado algunas alternativas con buenos resultados que es el control biológico y el uso de extractos vegetales.

Los agentes de control biológico que se utilizan en la agricultura orgánica para el control de plagas y enfermedades son diversos, entre los que podemos mencionar: depredadores, parasitoides, bacterias, virus baculovirus, nemátodos, hongos y protozoarios; además se han utilizado extractos vegetales con este mismo fin.

- **Depredadores.** Estos son organismos que consumen insectos durante su vida y activamente buscan su alimento, el que es consumido se le denomina presa. Estos agentes de control biológico consumen un amplio rango de presas entre las que podemos mencionar: pulgones, ninfas de mosca blanca, larvas pequeñas de lepidópteros, escamas blandas, escamas armadas y araña roja. Algunos de los depredadores mas importantes son: el león de los áfidos (*Chrysoperla carnea*), la catarinita (*Hippodamia convergens*) y ácaros de la familia Phytoseidae. En México, *Chrysoperla carnea* se reproduce en 6 insectarios con una producción anual de 28.9 millones con dosis de liberación que oscila desde 2,500 hasta 25,000 huevecillos o larvas/Ha, aunque normalmente se liberan 10,000 insectos/Ha (Alatorre, 1996).
- **Parasitoides.** Se caracterizan en que el individuo que se desarrolla destruye a su huésped. Se establece que los estados larvales o inmaduros es el parásito; los parasitoides adultos son de vida libre, la hembra adulta es la que busca al huésped y lo oviposita, sobre, dentro o cerca de su huésped. Para el adulto la alimentación es normalmente con néctares o secreciones de mielecillas de plantas y de los áfidos, dieta que permite una mayor longevidad y fecundidad de las hembras parasitoides. En México la infraestructura de insectarios reproductores de organismos benéficos es de aproximadamente 43, que son operados por Comités Estatales de Sanidad Vegetal y empresas de la iniciativa privada (Vázquez, 1996).
- **Bacterias entomopatógenas.** Las bacterias son microorganismos distribuidos prácticamente en todos los hábitats. Se reproducen por fisión binaria con gran profusión en ambientes aeróbicos y anaeróbicos, cálidos o fríos, luminosos u oscuros, secos o húmedos, ocupando niveles como parásitos obligados o saprofiticos, comúnmente asociados con los insectos; la mayoría de las relaciones son inocuas al insecto, mas sin embargo existen un gran número de especies bacterianas que les causan enfermedades infecciosas. La especie que más se utiliza es *Bacillus thuringiensis* y se caracteriza por la presencia de un cristal que constituye la capacidad insecticida propia de la bacteria (Vázquez, 1996).

- ***Virus baculovirus entomopatógenos.*** Los baculovirus son entomopatógenos utilizados como agentes de control biológico, debido a su alto grado de especificidad, que no contaminan el ambiente y su alto rango de seguridad que representa para el hombre. Se han detectado como patógenos de lepidópteros, perteneciendo a este orden las principales plagas que provocan pérdidas económicas en la agricultura, de ahí el gran potencial de éstos organismos dentro del control biológico. Se conocen cuatro tipos de virus: virus de la poliedrosis nuclear, virus de la granulosis, virus de la poliedrosis citoplasmática y virus entomopatógenos (Alatorre, 1996).
- ***Nemátodos entomopatógenos.*** Los nemátodos son organismos que causan esterilidad o muerte del insecto hospedero. Existen asociaciones naturales entre insectos y nemátodos, en donde algunos nemátodos son capaces de parasitar insectos sanos, como son los casos de los nemátodos de los géneros *Steinernema* (Familia Steinernematidae) y *Heterorhabditis* (Familia Heterorhabditidae). Estos dos géneros aun dependen de bacterias como fuente alimenticia y han desarrollado mecanismos para transportar e introducir a insectos las bacterias del género *Xenorhabdus*. Estas bacterias son capaces de matar a los insectos en 48 horas, convirtiendo los cadáveres en un hábitat conveniente para el crecimiento y reproducción de nemátodos. Los nemátodos de insectos son principalmente parásitos obligados y facultativos, pueden atacar a los estadios biológicos de larva, pupa y adulto (Alatorre, 1996).
- ***Hongos.*** En la actualidad a nivel mundial se buscan nuevas estrategias de control de plagas donde los hongos entomopatógenos despiertan el interés como agentes potenciales de control biológico de insectos plaga. Los hongos entomopatógenos constituyen una alternativa de control biológico, como insecticidas microbiales por sus características biológicas y modo de acción, ya que éstos pueden inducir la formación de epizootias. Los insectos infectados por la aplicación inicial del patógeno mueren y la enfermedad se dispersa a través de la población de insectos a medida que los insectos muertos liberan nuevamente el inóculo. De esta forma las epizootias pueden continuar hasta que existan insectos nuevos disponibles y las condiciones ambientales sean apropiadas (Alatorre, 1996).

Baños (2007), menciona que *Trichoderma harzianum*, ha demostrado ser efectivo contra diversas especies de *Fusarium*, hongos que causan daños importantes en el cultivo del jitomate. El uso de *Trichoderma harzianum* durante la etapa de invernadero del cultivo de jitomate permite disminuir significativamente la incidencia de *Fusarium* en las raíces y en el fruto maduro. La incidencia de *Fusarium* en el cultivo de jitomate causa anualmente pérdidas económicas importantes a los productores, además de que puede potenciar el efecto negativo de los nemátodos (gusanos microscópicos causantes de daños en la raíz) en el mismo cultivo.

- **Protozoarios.** Se considera que cada insecto plaga es hospedante de un protozoario con el potencial de ser utilizado en su control. Sin embargo, pocos protozoarios son lo suficientemente virulentos para matar rápidamente a su hospedero, por lo cual su uso en programas de control a corto plazo son poco frecuentes. Los protozoarios constituyen un invaluable regulador de poblaciones. Así por ejemplo, *Nosema locustae* tiene un efecto detrimental en el crecimiento y sobre vivencia de chapulines (Alatorre, 1996).
- **Extractos vegetales.** La humanidad ha utilizado productos de las plantas para el control de insectos por varios siglos. Los insecticidas botánicos son productos derivados de vegetales, es decir, que no son sintetizados químicamente, sino que mediante ciertos procedimientos son extraídos de las plantas. Dentro de este grupo se tienen las piretrinas y alcaloides, entre otros (Vázquez, 1996).

Abou-jawdah (2007), menciona en su investigación que las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas para controlar diferentes enfermedades en productos hortofrutícolas. La obtención de los extractos vegetales y el estudio de los componentes activos propician su empleo contra diferentes fitopatógenos. En condiciones *in vitro* los extractos inhiben el crecimiento del patógeno, así como la esporulación y germinación de esporas, de modo que ayudan a controlar las enfermedades de frutos y hortalizas. Se conoce que sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa. El proceso para obtener metabolitos secundarios en los extractos es muy variable se pueden obtener extractos líquidos y en polvo o también utilizando otros disolventes para así obtener otros diferentes compuestos.

Recientemente Gamboa (2002), menciona que el uso de aceites esenciales y extractos vegetales como bactericidas y fungicidas ha cobrado mayor importancia. Los plaguicidas naturales mas conocidos y utilizados a nivel mundial, son aquellos para el control de insectos, entre los que se pueden mencionar: la cebolla, el tabaco, semillas de paraíso, ortiga, piretro, etc., y los extractos vegetales para el control de enfermedades fungosas y bacteriales son muchos mas escasos. En el Cuadro 3.4, se muestra una relación de diversos estudios llevados a cabo en el control de plagas y enfermedades a base de extractos vegetales.

Cuadro 3.4 Uso de extractos vegetales en el control de plagas y enfermedades.

Especies de plantas	Hongo y/o bacteria que controlan	Estudio	Fuente
Ajo, cebolla, quebracho colorado, agrial, palo santo, chirca, guayaba, eucalipto y pino.	<i>Xanthomonas campestris pv. campestris</i>	<i>in vitro</i>	Stauffer y colaboradores (2005)
Ajo	<i>Penicillium italicum</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Fusarium sp.</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i> ; <i>Alternaria sp.</i> ; <i>Colletotrichum sp.</i> ; y <i>Pythium sp</i>	In vitro	
Cebolla	<i>Fusarium sp.</i> ; <i>Alternaria sp.</i> ; <i>Colletotrichum sp.</i> ; y <i>Pythium sp.</i> .	In vitro	
Mamón	<i>Colletotrichum sp.</i>	In vitro	Stauffer y colaboradores (2005)
Oleonim -80, Neonim -60	<i>Penicillium italicum</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Fusarium sp.</i> ; <i>Rhizoctonia</i>	In vitro	López (1996),
canela (<i>Cinnamomun zyelanicum</i>) y orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	<i>Aspergillus flavus</i>	In vitro	Erick Artur y colaboradores, (2006)

El cultivo del jitomate, como todos los productos agrícolas, debe cumplir las condiciones que le permitan al consumidor final disfrutar de alimentos sanos, inocuos y saludables, es decir, libres de tóxicos, cuyo proceso de producción sea social y ambientalmente responsable. Las nuevas tendencias del mercado, guiadas por mayor conciencia y sensibilidad del consumidor frente a estos aspectos, así como las restricciones internacionales respecto del uso de agroquímicos de síntesis, obligan a los agricultores a buscar nuevas alternativas tecnológicas que cumplan con estas exigencias.

En el sistema de producción de jitomate bajo invernadero, es necesario identificar riesgos y peligros para el productor, el consumidor y el medio ambiente, e implementar medidas más apropiadas para su prevención y control, o sea, sistemas de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), con el fin de mejorar los métodos convencionales de producción, con énfasis en la inocuidad del producto y en que el proceso productivo impacte lo menos posible el ambiente, la fauna, la flora y la salud de los trabajadores. En la actualidad las BPA, más que un atributo, son un componente de competitividad que le permite al productor diferenciar su producto de los demás oferentes, con todas las implicaciones que ello hoy supone (mejores precios, acceso a nuevos mercados, consolidación de los actuales, etc.). Las BPA constituyen una herramienta cuyo uso persigue la sostenibilidad ambiental, económica y social de las explotaciones agropecuarias, especialmente de los pequeños productores, lo cual debe traducirse en la obtención de productos más inocuos y saludables para el autoconsumo y el consumidor en general.

Producción de jitomate.

3.5 Producción internacional de jitomate.

El tomate o jitomate (*Lycopersicon esculentum*) es uno de los cultivos hortícolas con mayor área cultivada y producción global. México ocupó en el año de 2003, el noveno lugar en la producción con 2.1 millones de toneladas, siendo China el mayor productor con 31.6 y Estados Unidos el segundo con 12.7 (Cuadro 3.1) (SAGARPA, 2004; FAO, 2004).

Cuadro 3.1 Principales países productores de jitomate en el año 2003 (SAGARPA, 2004; FAO, 2004).

Países	Producción (toneladas)
China	25,466,211
Estados Unidos	10,250,000
Turquía	9,000,000
India	8,500,000
Italia	7,000,000
Egipto	6,328,720
España	3,600,000
Brasil	3,518,163
México	2,100,000
Grecia	2,000,000
Federación de Rusia	1,950,000
Chile	1,200,000
Portugal	1,132,000
Ucrania	1,100,000
Uzbekistán	1,000,000
Marruecos	881,000
Nigeria	879,000
Francia	870,000
Túnez	850,000
Argelia	800,000
Japón	797,600
Argentina	700,000

En cuanto a la exportación de jitomate fresco, España, los Países Bajos y México se disputan las tres primeras posiciones (SAGARPA, 2004; FAO, 2004). El consumo per capita de jitomate y papa a nivel mundial es de 16.5 Kg anuales; chile verde, 8.8 Kg; cebolla, 5.7 Kg; melón, 6.5 Kg; sandía, 5.5 Kg; tomate de cáscara, con 1.7 Kg y el resto de hortalizas en cantidades inferiores (Gómez, 1994).

Los mayores consumidores de jitomate son Grecia y Libia al superar los 100 kilogramos por habitante al año. Por lo tanto, esta región del mundo se convierte en un atractivo para los productores y comercializadores de la hortaliza, aun siendo una región muy competida por las exportaciones españolas y holandesas (Alejandro, 2003).

México fue de los últimos países en participar en la producción bajo invernadero sin embargo tiene la ventaja de producir para el mercado de invierno que tiene los mejores precios y se estima que ya rebasó a Canadá en su volumen de producción, debido a la rápida expansión de la producción de invierno, se espera que bajen los precios. Los precios de los productos de invernadero aun son muy dependientes del volumen de hortalizas producidas a campo abierto y de las condiciones climatológicas. La producción en invernadero, aun siendo protegida, sigue siendo estacional y esta sujeta al impacto de eventos climatológicos (SAGARPA, 2004).

3.5.1 Producción nacional de jitomate.

En México, se prefiere consumir el jitomate fresco, pero también es utilizado como producto industrializado para elaborar pastas, salsas, purés, jugos, etc. Según cifras del Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIEA) la producción total mexicana de jitomate durante el periodo 1991-2000, fue de 19 millones de toneladas, el 70% de la producción se concentró en los estados de Sinaloa (38.7%), Baja California (14.7%), San Luis Potosí (7.9%), Michoacán (6.7%) y Puebla (2%), que son los principales estados productores de jitomate (SAGARPA, 2004).

La producción bajo invernadero en México está basada en productos múltiples, los productores a cielo abierto compiten con los que cultivan en invernaderos. Hay distintos niveles en la tecnología aplicada y todavía se siguen buscando las ubicaciones ideales. Los costos energéticos representan un problema y ha habido muchos fracasos. Algunos productores que cultivaban a cielo abierto y ahora poseen invernaderos, están trasladando sus operaciones a las ubicaciones correctas (con clima templado todo el año, como en Jalisco) en lugar de instalarlos en sus zonas de residencia/producción. Los compradores al mayoreo en los Estados Unidos tienen la percepción de que los jitomates mexicanos deberían ser más baratos y que su calidad es menos consistente y algunas veces inferior. Por tales razones, se les paga un menor precio por sus productos de invernadero, dificultando su rentabilidad (Carreón *et al.*, 2007).

Debido a las inversiones que se realizan en los invernaderos, en especial en México, es importante reconocer que los niveles de precios promedio tienden a reducirse por la expansión del cultivo bajo invernadero. Más competencia y menores precios promedio significan que sólo los más eficientes van a sobrevivir. La curva de aprendizaje para los nuevos productores de cultivo bajo invernadero tiene que ser cada vez más corta. Deben lograr la más alta calidad y los menores costos por unidad producida (Kg), lo más pronto posible (Cook, 2007).

La industria del jitomate cultivado en campo se ha mantenido a pesar de la expansión del cultivo bajo invernadero. Asimismo, la industria del jitomate cultivado en campo tiene un nuevo producto, los jitomates-uva, en parte como respuesta a los productos cultivados en invernadero. En México se exploran todos los niveles tecnológicos en la producción protegida, para obtener tasa de retorno a la inversión. Comparativamente con campo cualquier nivel de tecnología significa mejores rendimientos conforme se mejora el manejo y el conocimiento técnico, pero costos mayores por Kg (Cook, 2007).

3.5.2 Producción en el Estado de Querétaro de jitomate.

En el Estado de Querétaro el sector agrícola ocupa una superficie de 139,101 Ha sembradas, de las cuales el 93% es para la producción de granos y cereales, 5% pastos y forrajes y sólo el 2% de hortalizas (2,138 Ha) (Figura 3.1). En todos los municipios del Estado se cultivan hortalizas con la excepción de Landa de Matamoros, Pinal de Amoles, San Joaquín, y Amealco. Las principales hortalizas que se cultivan en el estado son: chile seco y verde, tomate verde, jitomate y elote (Figura 3.2) (SEDEA, 2007).

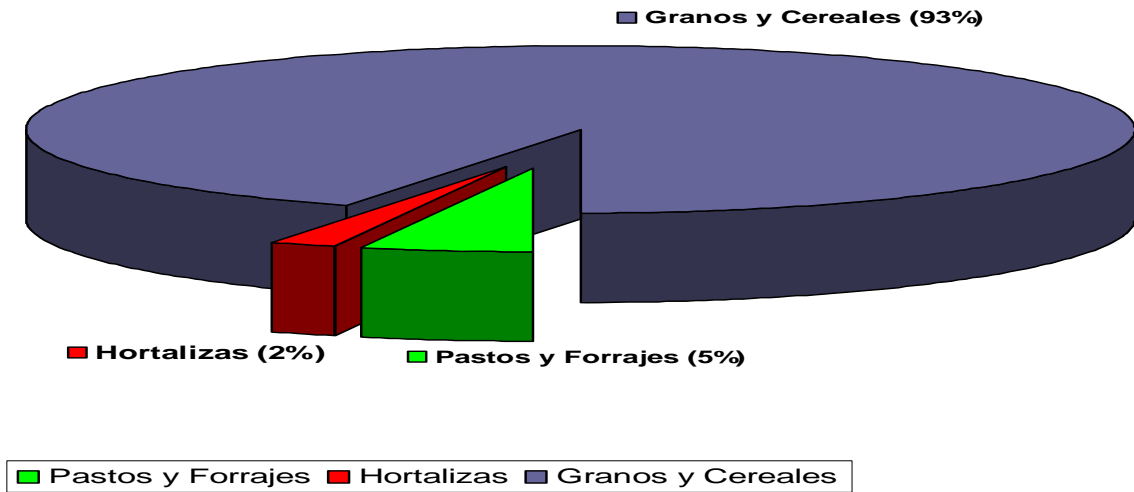


Figura 3.1 Producción agrícola en el Estado de Querétaro (SEDEA, 2007).

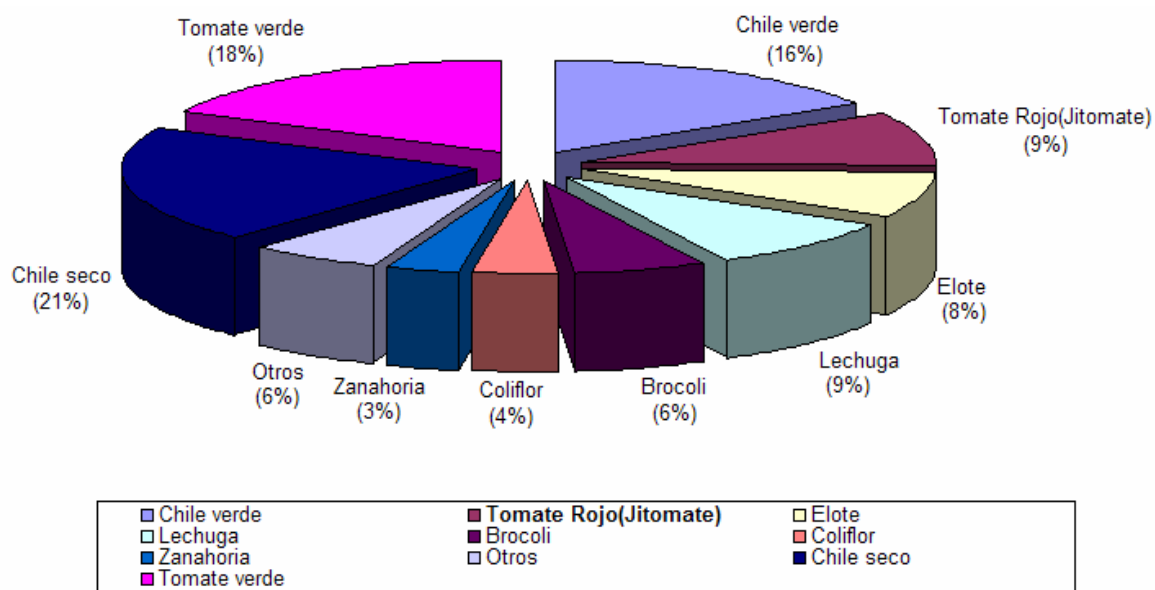


Figura 3.2 Superficie cultivada de hortalizas en Querétaro en el 2006.

La producción de jitomate a cielo abierto en el Estado se lleva a cabo en dos temporadas al año: el ciclo primavera- verano 2006 y el otoño-invierno (2005/2006). En el 2006, en el primer ciclo se sembró y cosechó una superficie de 202 Ha, con un rendimiento total de 12,497 Ton (61.87 Ton/Ha), y en el segundo ciclo se sembró 24 Ha, con una producción total de 7,231 Ton y el rendimiento fue de 301.29 Ton/Ha. Los municipios productores de jitomate son: Cadereyta, Colón y Peñamiller (SEDEA, 2007).

La tecnificación de la agricultura es un fenómeno presente en el estado de Querétaro, a través del establecimiento de unidades de producción de agricultura protegida como invernaderos cuyos rendimientos por unidad de superficie superan varias veces a los sistemas tradicionales a cielo abierto. Aunque la superficie de cultivo del ciclo primavera-verano del 2006 fue mayor, no obstante, se registro un incremento en el volumen de producción de los Municipios de Arroyo Seco con 2,700 toneladas y Pedro Escobedo con 6,000 toneladas, quedando con menos producción durante este periodo los municipios de Peñamiller con solamente 63 toneladas, Tolimán con 83 y Cadereyta con 90 toneladas de producción (SEDEA, 2007).

3.6 Características generales del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

3.6.1 Origen.

El origen del género *Lycopersicon* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecía como maleza entre los huertos. Durante el siglo XVI se consumían en México jitomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, pero para entonces ya habían sido llevados a España y servían como alimento en España e Italia. En otros países europeos solo se utilizaban en farmacia y así se mantuvieron en Alemania hasta comienzos del siglo XIX. Los españoles y portugueses difundieron el jitomate a Medio Oriente y África, y de allí a otros países asiáticos, y de Europa también se difundió a Estados Unidos y Canadá (Pacheco, 2006).

3.6.2 Taxonomía.

Según Garza (1985), la taxonomía del jitomate es la siguiente:

Clase: Angiospermae

Subclase: Dicotyledoneae

Grupo: Metachlamydae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Genero: *Lycopersicon*

Especie: *esculentum*

Nombre científico: *Lycopersicon esculentum* Mill

3.6.3 Morfología.

- **Planta:** Perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual (Figura 3.3). Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas) (Garza, 1985).



Figura 3.3 Planta de jitomate de la variedad (Cimabue), indeterminada cultivada en el invernadero del Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería.

- **Raíz.** El sistema radical del jitomate consta de una raíz principal típica de origen seminal y numerosas raíces secundarias y terciarias; la raíz principal puede alcanzar hasta 60 cm de profundidad. Sin embargo, cuando la planta se propaga mediante trasplante, como sucede generalmente, la raíz principal se ve parcialmente detenida en su crecimiento, en consecuencia se favorece el crecimiento de raíces secundarias laterales, las que, principalmente se desenvuelven entre los 5 y 70 cm de la capa del suelo. Las porciones de tallo y en particular la basal, en condiciones adecuadas de humedad y textura del suelo, tienden a formar raíces adventicias (Garza, 1985).
- **Tallo.** La planta de jitomate es una herbácea, perenne cultivada como anual, es ramificada, con crecimiento indeterminado o determinado por un racimo floral. El tallo es el eje sobre el cual se desarrollan las hojas, flores y frutos; el diámetro puede ser de 2 a 4 cm y el porte puede ser de crecimiento determinado (tallos que al alcanzar un determinado número de ramilletes detienen su crecimiento) e indeterminado (tallos que no detienen su crecimiento). Los tallos son pubescentes en toda su superficie.

En las axilas de las hojas del tallo principal surgen los tallos secundarios que son eliminados mediante poda para una buena conformación de la planta. El desbrote debe ser oportuno, sobre todo el brote inmediato inferior al racimo, el cual surge con gran vigor (Berenguer, 2003).

- **Hojas.** Las hojas son de limbos compuestos por 7 a 9 foliolos con bordes dentados, el haz es de color verde y el envés de color grisáceo. La disposición de nervaduras en los foliolos es penninervia. En general, la disposición de las hojas en el tallo es alterna (Garza, 1985).
- **Estructura floral.** El jitomate es una planta hermafrodita que presenta flores bisexuales en forma de racimo simple, en la base de la planta o ramificado en la parte superior. Las flores son pequeñas, pedunculadas de color amarillo, formando corimbos axilares; el cáliz tiene cinco pétalos, corola soldada interiormente, con cinco pétalos que conforman un tubo pequeño, los cinco estambres están soldados, el estilo a veces sobresale de los estambres, el ovario contiene muchos óvulos. El número de flores depende del tipo de jitomate. En jitomates de grueso calibre el ramillete tiene de 4 - 6 flores; en jitomates de calibre mediano aumenta de 10 – 12 flores por ramillete y en los jitomates tipo cereza o cherry no es extraño que se desarrollen hasta 100 flores por racimo (Berenguer, 2003).
- **Semillas.** La semilla del jitomate es de forma lenticular, con dimensiones aproximadas de 5x4x2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal. El embrión lo forma una yema apical, dos cotiledones, el hipocotilo y la radícula. La testa o cubierta seminal es de un tejido duro e impermeable. La germinación de la semilla ocurre de manera fácil (Berenguer, 2003).
- **Frutos.** Los frutos de jitomate son vallas carnosas con diferencias en forma (lisos, asurcado, aperado) e intensidad de coloración rojiza, con cavidades o lóbulos internos variables, en donde se desarrollan las semillas de forma reniforme y aplanadas (Berenguer, 2003).

3.7 Plagas y enfermedades del jitomate.

3.7.1 Plagas.

Debido a que normalmente se identifica a los insectos como autores de este tipo de daños, los insectos y los ácaros pueden ser diseminados de forma pasiva por el viento, el suelo, partes vegetales infestadas, semilleros de plantas, maquinaria, etc. Tanto los insectos y los ácaros se pueden dispersar activamente caminando y los insectos también pueden dispersarse mediante el vuelo.

No todos los insectos son dañinos, algunos son benéficos pues se alimentan de aquellos que son plagas y de los que afectan la calidad de las plantas, entre los insectos benéficos se encuentra las chinichinas, los matapijos y las avispas, entre los insectos no benéficos se consideran el minador de la hoja, el thrips, pulgones, barrenador del tallo del zapallo, mosca blanca, gusanos y caracoles y babosas. Es necesario revisar diario el cultivo para detectar la presencia de plagas y destruirlos, a continuación se mencionan las principales plagas que afectan al cultivo de jitomate (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2 Principales plagas de jitomate (InfoAgro, 2007).

Nombre común	Nombre científico	Estado de desarrollo en que ataca	Parte de la planta que ataca
Araña roja	<i>Tetranychus unticae</i>	En estado larvario	Haz y envés de las hojas
Mosquita blanca	<i>Bemisia tabaci</i>	En estado adulto como larvario	Hojas y partes jóvenes de las plantas.
Minador de la hoja	<i>Liriomyza</i> sp.	En estado adulto	Ponen sus huevos en hojas jóvenes (envés y haz) y también en los tallos.
Pulgón	<i>Aphis gossypii</i>	En estado adulto	Envés de las hojas y en tallos
Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i>	En estado larvario y adulto	Hojas, flores y frutos alimentándose de la capa externa celular.

- **Araña roja (*Tetranychus unticae*).**

Descripción: Para su reproducción se deben alcanzar unas condiciones climáticas favorables de 40 a 55 % de humedad relativa y buena incidencia de luz. Se reproduce por huevos (Figura 3.3). Los huevos son de forma oval y de color amarillento o rojizo, que se encuentran en el envés de la hoja. Una vez nacida la araña, que ya posee seis patas, pasa por tres estados hasta llegar al de adulto.

Larva.

-Protoninfa: solo presentan dos pares de patas

-Deutoninfas: en esta fase se diferencian ya el carácter sexual de la araña, hembra o macho.

Si la temperatura es elevada y el ambiente seco, la multiplicación de la araña roja se incrementa cada vez más.

La hembra, de forma oval, tiene un color que va de amarillento a verde, con dos o cuatro manchas dorsales oscuras. El macho, que es más activo, tiene cuerpo más angosto y abdomen más apuntado. Los huevecillos son esféricos, diminutos y transparentes a la ovipostura. Luego adoptan un color amarillo-verdoso. La larva es transparente, con ojos carmín, seis patas y no es mucho mayor que el huevecillo. Durante las dos etapas de ninfa es gris pálido, de forma oval y ocho patas. Las manchas oscuras ya son visibles en esta etapa (InfoAgro 2007)



Figura 3.4 Araña roja (*Tetranychus unticae*) en fase adulta, sobre una hoja de jitomate

Síntomas en el cultivo: Los daños ocasionados por los ácaros principalmente los de araña roja son penetrando en la epidermis y extraen la savia del envés de las hojas. El follaje infestado adopta un aspecto blancuzco o bronceado. Las hojas ligeramente infestadas muestran manchas o erupciones pálidas que permiten ver al través; cuando son gravemente infestadas se tornan pálidas y se secan. El envés puede verse recubierto de tejido sedoso o telarañas por encima del cual se arrastran los ácaros de la araña roja. (InfoAgro 2007).

Cultivos que ataca: Diversos cultivos hortícolas como el jitomate, el pepino, el chile, el melón y la calabaza, etc.

Control cultural: Eliminación de maleza y restos de cultivo. Evitar excesos de nitrógeno, (Productores de Hortalizas 2006).

Control biológico: Las principales especies depredadoras de huevos, larvas y adultos de araña roja: *Amblyseius californicus*, *Phytoseiulus persimilis* (especies empleadas para el control de la mosquita blanca. (Productores de Hortalizas 2006).

Control químico: Abamectina, Acrinatrín, Dicofol, Fenbutestan, Fenpiroximato, Tebufenpirad, Tetradifón, (Anónimo, 2006).

- **Mosquita Blanca (*Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisa tabaci*).**

Descripción: Existen dos especies de mosquita blanca, ambas son plagas de diversos cultivos, donde la más común es mosquita blanca (*Bemisa tabaci*).

Se les denomina mosca blanca por su presencia de dos alas y su aspecto blanco, no supera los 2mm de longitud. Las alas le sirven para desplazarse de una planta a otra con relativa facilidad. Durante el invierno se encuentra de forma fija en el envés de las hojas. Es atraído por el color amarillo y verde claro. Se nutre de hojas y de las partes jóvenes de las plantas.

Reproducción: La reproducción se realiza por huevos, que pone en el envés de las hojas, en una cantidad aproximada de 180 a 200, de color blanco-amarillento y de tamaño muy diminuto. A simple vista se ve como una pequeña cantidad de polvo blanco. Desde que se ponen los huevos hasta el nacimiento del individuo transcurre un tiempo de 20 a 24 horas. Se pasa por cuatro estadios larvarios desde el huevo al adulto, los cuales son (InfoAgro, 2007):

Primer estadio: El huevo tiene un tamaño de 0.25 mm. Esta larva clava su aparato bucal en los tejidos de las plantas para nutrirse de ellos (Figura 3.5a).

Segundo estadio: La larva ya alcanza un tamaño aproximado de 0.4 mm y ya se puede apreciar la aparición de patas (Figura 3.5b).

Tercer estadio: Cuando la larva tiene un tamaño de 0.5 mm y es de aspecto transparente (Figura 3.5c).

Cuarto estadio: Aparecen órganos como los ojos y empieza a aumentar en grosor y tamaño (Figura 3.5d).

Tras estos cuatro estadios larvarios la mosca blanca hecha a volar de inmediato. La duración es de un mes en estado larvario. Para el desarrollo total de la misma es necesario unas condiciones adecuadas. La mosca blanca está provista de un órgano bucal chupador con una prolongación punzante que ocasiona diversos daños en la plantación porque sustrae la savia de las plantas y desarrolla la fumagina (InfoAgro 2007).

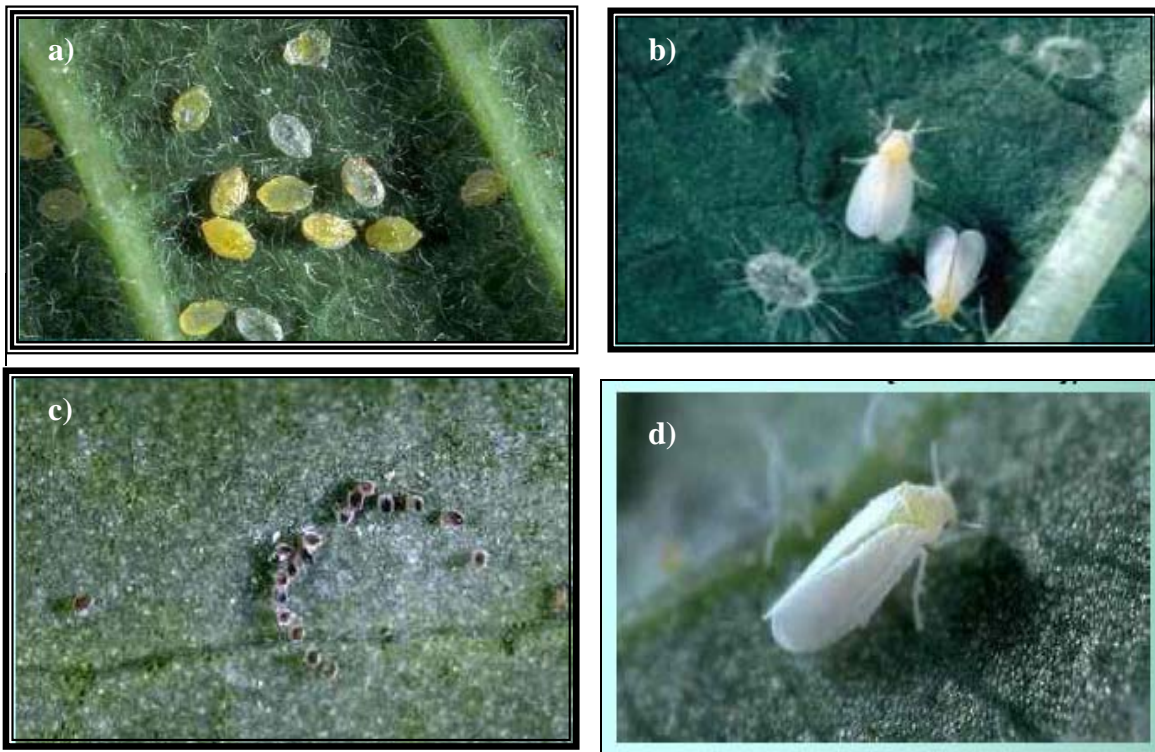


Figura 3.5 Estados de desarrollo de la mosquita blanca (Gómez, 2006). a) huevo, b) larva, c) crecimiento de la larva, d) adulto sobre una hoja de jitomate.

Síntomas en el cultivo. Las plantas infectadas presentan menos vigor y las hojas se cubren con mielecilla. La mosca blanca se alimenta del tejido de las hojas, extrayendo la savia de la planta lo cual entorpece su crecimiento. En las plantas infectadas las hojas se vuelven amarillentas y se caen. Se desarrolla un hongo semejante a tizón en las hojas cubiertas del rocío viscoso producido por la mosca blanca.

Daños. Los daños que se ocasionan comienzan cuando la mosca se instala en el envés de la hoja hospedante y tanto en estado adulto como larvario, comienzan a nutrirse de ella y deteriorando el crecimiento de la misma. Debido a su facilidad para desplazarse de una planta a otra, e introducir su aparato bucal, llega a transmitir enfermedades víricas e incluso por su excremento, que forma una lámina pegajosa y produce el desarrollo de hongos.

Cultivos hospederos: Los cultivos que se ven más afectados por este insecto son: las plantas del tomate, pimiento, pepino, judía, tabaco.

Control cultural: Proteger las plantas antes del trasplante.

Control biológico: Se utilizan *Encarsia formosa* y *Eretmocerus californicus*. *Encarsia formosa* es una avispa pequeña de 0.6 mm de longitud, con la cabeza y el tórax de color negro y con el abdomen de color amarillo. Hay que introducir el parasitoide cuando la población de la mosquita es baja. Se podrán observar las pupas parasitadas 2 a 3 semanas de la primera introducción y tomará alrededor de 8 semanas para que se parasite el 80% de las pupas. *Eretmocerus californicus* se desarrolla en cualquier estado larvario de la mosca blanca pero prefiere el segundo y tercero. Deposita sus huevos en la larva de la mosca blanca y después de 3 días el huevo translúcido se torna a color café. El ciclo completo toma de 17 a 20 días, dependiendo del estado larval y de la temperatura (León, 2001).

Control químico: Abamectina, Acrinatrín, Dicofol, Fenbutestan, fenpiroximato, tebufenpirad, tetradifón.

- **Minador de la hoja (*Liriomyza* spp).**

Descripción: Existen varias especies de minadores de hojas que pertenecen al orden Díptera de la familia Agromyzidae, entre las que se encuentran: *Liriomyza munda*, *L. trifoli*, *L. pictella* y *L. sativae*. Los adultos miden aproximadamente de 2 a 3 milímetros de longitud, son de color negro brillante y se distinguen porque la región posterior de la cabeza es de color negro, el tercer segmento de la antena es pequeño, redondo, amarillo y pubescente, la parte dorsal del protórax y mesotórax es de color negro, metotórax amarillo; el abdomen ventralmente es de color amarillo (Figura 3.6) (López y Gastélum, 2003).



Figura 3.6 Hoja de jitomate con daño ocasionado por el minador. Foto: López y Gastélum, 2003.

Reproducción: El minador de la hoja presenta cuatro estados larvarios: huevo, larva, pupa y adulto. De huevo a adulto requiere de tres semanas bajo condiciones favorables de temperatura y humedad, la larva nace a los 4 días después de haber sido depositado el huevo y completa su desarrollo en un lapso de 10 días. La pupa tiene una duración de 7 a 8 días para dar origen al adulto e iniciar una nueva generación. La hembra adulta oviposita individualmente, inserta los huevos en la epidermis, principalmente en el haz de las hojas, aunque existen ocasiones en que estos son depositados en el envés. La larva pasa todo su desarrollo en el interior de la hoja, donde forma una mina sinuosa y alargada, fácil de observar a simple vista al colocar las hojas atacadas a contraluz. Para el monitoreo de adultos se utilizan trampas amarillas con pegamento (López y Gastélum, 2003).

Control cultural: La eliminación programada del follaje mediante la poda del cultivo de jitomate durante su desarrollo, disminuye significativamente la infestación de las larvas de minador de la hoja, pulgones y ninfas de mosca blanca o minador, para ello las hojas eliminadas se colectan en bolsas de plástico y se destruyen.

Se utilizan trampas amarillas para detectar la presencia de esta plaga. Se recomienda una trampa cada 900 m². El uso de trampas se combina con conteos visuales de larvas en las hojas al menos una vez por semana. (Phytopathological 2001)

Control biológico: Se recomienda utilizar las avispas *Diglyphus* sp y *Ophius* sp. y *Chrysonotomyia* sp. (Phytopathological 2001).

Control químico: Se recomienda la aplicación de los insecticidas llamados de nueva generación: Cyromazina (Trigard) y la abaecina (Agrimec). La Cyromazina ha demostrado ser efectiva contra larvas de minador de la hoja y segura para la fauna benéfica. El Avid 1.8 (1.0 y 0.75 l/ha), Trigard 75 (0.80 y 0.60 kg/ha) y Lorsban 480 E (1.5 l/ha) también son insecticidas efectivos contra larvas de minador de la hoja en el cultivo de jitomate (López y Gastélum, 2003).

- **Pulgón (*Aphis gossypii*).**

Descripción: Las especies de pulgón más comunes y abundantes en los invernaderos son Pulgón del Tomate, (*Macrosiphun euphorbiae*) y Pulgón fríjol de Vaca, (*Aphis craccivora*). Presentan polimorfismo, con hembras haladas y ápteras de reproducción vivípara (Figura 3.7).



Figura 3.7 Pulgones más abundantes en los invernaderos. Foto: InfoAgro, 2007.

Reproducción. Forman colonias y se distribuyen en focos que se dispersan, principalmente en primavera y otoño (López y Gastélum, 2003). Su ciclo biológico consta de siete estadios: huevo, primer estadio larvario, segundo estadio larvario, tercer estadio larvario, prepupa, pupa y adulto.

Los huevos de este tipo de minador de hoja son pequeños de un diámetro aproximado de 1 mm, son de color transparente (cristalino) que con el tiempo pasa a un color cremoso, forma ovoide. La incubación dura aproximadamente de 3 a 10 días. La larva sale al eclosionar el huevo, no posee patas, pero se mueve por los movimientos que va realizando con el tórax, tiene una mandíbula con una cuchilla. Tiene un tamaño de 3mm y es de color amarillento. Los estadios larvarios son tres y tiene una duración aproximada de unos 8 a 10 días (López y Gastélum, 2003).

En estado de prepupa la larva teje una especie de cámara pupal (capullo sedoso), que es de color amarillo. Después de la fase de prepupa está la fase de pupa que es de color amarillo también pero más perdueca. Posee dos ojos y unos ganchos en la parte superior de la cabeza que sirve para romper el capullo sedoso y salir de él, impulsándose mediante convulsiones con su propio cuerpo.

En estado adulto es una mariposa pequeña de 2 a 4 mm de tamaño de color blanco platino y sedosa, con ojos compuestos, antenas largas y aparato bucal chupador sus alas son plumosas con dos manchitas negras en su parte dorsal. La mariposa hembra suele ser de mayor tamaño que la mariposa macho. Ponen sus huevos en hojas jóvenes y tiernas sobre el envés y haz de la hoja y también en los tallos. El número de huevos que una hembra puede poner a lo largo de su vida es de 36 y 76. Su ciclo tiene una duración aproximada de unos 15 a 20 días, cuando existen unas condiciones climáticas adecuadas de 25°C de temperatura, humedad relativa de 40 a 60% (López y Gastélum, 2003)

Síntomas del cultivo: Los daños son producidos por las larvas que se alimentan de los tejidos de las hojas jóvenes y tiernas excavando galerías dentro de ellas, y dejando solo por encima la cutícula de la hoja. La hoja acaba destruyéndose, curvándose y la cutícula acaba ennegreciéndose. Aunque las hojas queden destruidas por estos minadores la cosecha no se ve tan afectada. Si las condiciones climáticas son buenas (altas temperaturas) el minador incrementa más su actividad destructora en las hojas. La acción del minador de hoja provoca una elevada pérdida de masa foliar, reduciendo la capacidad fotosintética de la planta lo que produce la pérdida de vigor de éste.

Cultivos que ataca. Principalmente a taca a los cultivos de pimiento, pepino y tomate.

Control cultural. Se aconsejan realizar tratamientos antes de que el pulgón alcance un alto nivel de población, así como la colocación de mallas en los límites de los invernaderos, con el fin de dificultar su acceso a los cultivos. Además, es muy útil la colocación de trampas cromotrópicas amarillas, que son engomadas y tienen atrayentes, sobre todo, para las especies aladas. Asimismo, es necesario eliminar las malas hierbas y los restos de cultivos o plantas anteriores (Prado, 2008).

Control biológico. Seda por depredadores generalistas que serian como las arañas, tijeritas o varios tipos de chinches, en algunos casos, los depredadores son las larvas.

- **Trips (*Frankliniella occidentalis*).**

Descripción: Los adultos presentan una forma alargada, que oscila entre los 1,2 mm de las hembras y los 0,9 mm de longitud de los machos, con dos pares de alas plumosas replegadas sobre el dorso en estado de reposo. Las hembras son de color amarillento-ocre con manchas oscuras en la parte superior del abdomen, siendo dicha coloración más clara en verano y en los machos. A su vez presentan un aparato bucal rascador - chupador por lo que los daños se dan en la epidermis de los frutos (Biobest, 2006).



Figura 3.8 Hembra de trips adulto. Foto: Biobest, 2006.

Reproducción: Los adultos colonizan los cultivos realizando las puestas dentro de los tejidos vegetales en hojas, frutos y, preferentemente, en flores (son florícolas), donde se localizan los mayores niveles de población de adultos y larvas nacidas de las puestas.

Síntomas del cultivo: Los daños directos se producen por la alimentación de larvas y adultos, sobre todo en el envés de las hojas, dejando un aspecto plateado en los órganos afectados que luego se necrosan. Estos síntomas pueden apreciarse cuando afectan a frutos (sobre todo en pimiento) y cuando son muy extensos en hojas). Las puestas pueden observarse cuando aparecen en frutos (berenjena, judía y jitomate). El daño indirecto es el que acusa mayor importancia y se debe a la transmisión del virus del bronceado del jitomate (TSWV) (López y Gastélum, 2003).

Cultivos que ataca: frutos (berenjena, judía y jitomate)

Control cultural: Colocación de mallas en las bandas del invernadero y vigilar que no haya roturas en el plástico.

Limpieza de malas hierbas dentro y fuera del invernadero y eliminación de restos de cultivo sobre todo antes de realizar una nueva plantación, distanciando ésta el máximo tiempo posible de la anterior.

Colocación de trampas adhesivas azules antitrips desde el inicio del cultivo, a la altura de éste, para realizar un seguimiento de las poblaciones de adultos.

Control químico: Este medio de lucha encuentra una gran dificultad en el control del insecto debido a su comportamiento. Las larvas se encuentran refugiadas en las flores, las ninfas en el suelo, y el adulto tiene una gran movilidad. En el control químico, las aplicaciones deben alcanzar bien toda la planta, sobre todo en el envés de las hojas y flores. Procurar mantener un control de la plaga desde el inicio del cultivo y sobre todo antes de la floración. Alternar el uso de materias activas. Los productos recomendados pueden consultarse en los boletines de la Sección de Protección de los Vegetales o consultando a las Estaciones de Avisos.

Normalmente se realizan dos tratamientos químicos espaciados 7 días. Como materias activas destacan el formetanato, aceite de verano, metiocarb, fenitrotión, malatión, naled y acrinatrin. El producto más eficaz es el aceite de verano, el segundo es el formetanato. Con el metiocarb se han generado resistencias. En todos los productos se reduce la población de los enemigos naturales de la plaga, por lo que se recomienda el uso de productos respetuosos con la fauna auxiliar.

Control biológico: La acción de los depredadores de trips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), está ejercida principalmente por ácaros fitoseidos depredadores del género *Amblyseius* (*Amblyseius cucumeris* y *Amblyseius barkeri*) y algunas especies de heterópteros antocóricos del género *Orius*. En este sentido la especie mejor adaptada a las condiciones de los cultivos en invernadero es el ácaro fitoseido *A. barkeri* (Hughes), que aparece con frecuencia en las distintas zonas agrícolas y cultivos, incluso en parcelas en las que se realizan continuos tratamientos fitosanitarios. La acción de este depredador se complementa con la suelta de la especie *A. cucumeris* (Oudemans) y sobre todo con la liberación de *Orius* (Alcazar, 2000).

3.7.2 Enfermedades

Las enfermedades son una causa importante de pérdidas postcosecha y en los cultivos reduce considerablemente la rentabilidad durante la producción dependiendo de la estación, región y prácticas de manejo. Generalmente las pudriciones y lesiones de la superficie son ocasionadas por hongos fitopatógenos como *Alternaria* (pudrición negra), *Botrytis* (pudrición por moho gris), *Geotrichum* (pudrición ácida) y *Rhizopus* (pudrición algodonosa). También existen daños causados por bacterias como es la pudrición blanda bacteriana causada por especies del género *Erwinia* spp. Puede llegar a ser un problema serio, particularmente en la cosecha. En el Cuadro 3.3, se muestran las principales enfermedades del jitomate.

Cuadro 3.3 Principales enfermedades del jitomate (William y Vera, 2003).

Causante	Nombre común y científico	Temperatura adecuada para su crecimiento	Parte de la planta que ataca
Hongo	Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)	3 - 35 °C	Las hojas, tallos,
Hongo	Moho gris (<i>Cladosporium fulvum</i>)	°C	hojas, brotes
Hongo	Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)	17 – 23 °C	hojas, brotes
Hongo	Oidiopsis (<i>Leveillula taurica</i>)	10 35 °C	las hojas
Bacteria	Mancha bacteriana (<i>Xanthomonas vesicatoria</i>)	24-30 °C	hoja, tallo, pedúnculo, floral, fruto
Hongo	Podre dumbre gris (<i>Botryotinia fuckeliana</i>).	15 – 20 °C	hojas, brotes e inflorescencias), en las estacas-injerto y racimos
Hongo	Podre dumbre blanca	10-25 °C	en tallos, hojas y frutos
Hongo	Mildiu (<i>phytophthora infestans</i>)	10 – 18 °C	En las hojas
Hongo	Alternariosis (<i>Alternaria solani</i>)	10 – 20 °C	Son hojas, tallo y ramas

- **Oidiopsis (*Leveillula taurica*).**

Descripción: Es un parásito (hongo saprofito), de desarrollo semi-interno y los conidióforos salen al exterior a través de los estomas. En jitomate produce manchas amarillentas en hojas que se necrosan rápidamente por el centro con la consecuente defoliación intensa de la planta afectada. (Figura 3.9).



Figura 3.9 Daños causados por el hongo Oidiopsis. Foto: Wikipedia 2006

Reproducción: Las solanáceas silvestres actúan como fuente de inóculo. Se desarrolla a 10-35°C con un óptimo de 26°C y una humedad relativa del 70% (León, 2001).

Síntomas del cultivo: Los síntomas que aparecen son manchas amarillas en el haz de las hojas, que se necrosan por el centro, observándose un fieltro blanquecino por el envés. En caso de fuerte ataque la hoja se seca y se desprende.

Cultivos que ataca: son el trigo, el jitomate y el pimiento.

Control cultural: Las plántulas procedentes de los semilleros deben de estar sanas.

Realizar tratamientos con productos específicos al aparecer los síntomas, evaluando previamente la intensidad del ataque y el estado fenológico del cultivo.

En caso de realizar más de una aplicación, alternar las materias activas con el fin de evitar la aparición de resistencias.

Control químico: El control del oidio en **tomate** deberá basarse en mantener las plantaciones preventivamente tratadas con azufre, guardando las precauciones propias frente a las altas temperaturas de la época.

El azufre, además de su efecto anti oidio, tiene un importante efecto repelente para numerosos insectos así como controlador de araña blanca.

Con la aparición de los primeros síntomas de oidio, deberá realizarse un tratamiento con productos más específicos como: Ciproconazol, Miclobutanil 12,5 (Systhane 12 E) o Hexaconazol, para posteriormente volver a la estrategia de azufre. (Wikipedia 2006).

- **Podredumbre gris** (*Botryotinia fuckeliana*).

Descripción: Es un hongo Ascomicete, que provoca grandes daños en numerosos cultivos. Cuando las solanáceas hortícolas vegetan bien no son casi afectadas. Pero, por el contrario, cuando los días son cortos, la luminosidad escasa y las temperaturas son del orden de 15-20° C, las plantas pueden sufrir graves daños. *Botrytis cinerea* precisa de bases nutritivas formadas por hojas senescentes, flores no fecundadas, heridas o muñones de hojas resultantes de las podas, es decir materia orgánica muerta, para poder iniciar la invasión de las partes vivas de la planta.



Figura 3.10 En los tallos se aprecia el daño en los nudos, en las heridas de poda,

Reproducción: Las principales fuentes de inóculo las constituyen las conidias y los restos vegetales que son dispersados por el viento, salpicaduras de lluvia, gotas de condensación en plástico y agua de riego. La temperatura, la humedad relativa y fenología influyen en la enfermedad de forma separada o conjunta. La humedad relativa óptima oscila alrededor del 95% y la temperatura entre 17°C y 23°C. Los pétalos infectados y desprendidos actúan dispersando el hongo (León, 2001).

Síntomas del cultivo: En hojas. En el borde del limbo aparecen amplias necrosis que tienen el aspecto de quemaduras, que en condiciones de humedad pueden presentar sobre el borde las manchas un polvillo gris.

En brotes jóvenes y sarmientos. Los primeros síntomas se manifiestan por la presencia de manchas alargadas de color achocolatado, que se recubren de una pelusilla grisácea si el tiempo es húmedo.

En racimos. Los síntomas durante la floración y el cuajado se manifiestan sobre las inflorescencias y en el raspón del racimo en forma de manchas de color marrón oscuro.

Cultivos que ataca: Es capaz de provocar grandes daños en numerosos cultivos. Cuando las solanáceas hortícolas vegetan bien no son casi afectadas.

Control cultural: Tratamientos preventivos durante la floración, o cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad.

Control químico: Sobre los tallos donde se inicie un chancro aplicar pastas fúngicas a base de tiram + iprodiona + éter de petróleo. También triadimefon.

El tratamiento químico debe ir acompañado de las medidas culturales mencionadas anteriormente. (InfoAgro 2007).

- **Podredumbre blanca** (*Sclerotinia sclerotiorum*).

Descripción: Esta enfermedad es la causante de la aparición de podredumbres blandas y blanquecinas en cultivos hortícolas, que no desprenden olor. Para que se produzca la enfermedad es necesario que haya pasado por unas determinadas condiciones previas, que se producen en el suelo a partir de infecciones en cosecha anteriores (Figura 3.11). Este hongo puede tener una duración media de 4-5 años en el suelo, siendo el principal medio de destrucción por parasitismo.



Figura 3.11 Daño causado por **Podredumbre** de raíces del tomate. Foto: Infojardin, 2001.

Reproducción: La enfermedad comienza a partir de esclerocios del suelo procedentes de infecciones anteriores, que germinan en condiciones de humedad relativa alta y temperaturas suaves, produciendo un número variable de apotecios. El apotecio cuando está maduro descarga numerosas esporas, que afectan sobre todo a los pétalos. Cuando caen sobre tallos, ramas u hojas producen la infección secundaria (León, 2001)

Síntomas del cultivo: Tiene síntomas muy variables, dependiendo de la planta afectada, incluso del órgano, pero en general se distingue por la aparición de una podredumbre blanca, acuosa, que no suele desprender mal olor, a diferencia de otras podredumbres blandas como *Botrytis* que si que desprenden un olor desagradable. Los síntomas pueden localizarse en tallos, hojas y frutos, apareciendo una gran abundancia de micelio blanco que más tarde se vuelve negro, pudiendo ser de hasta 1 cm de diámetro. Estas manchas al principio son blandas y acuosas secándose conforme avanza por la parte central.

Cultivos que ataca: por lo general a las plantas de jitomate, pepino, calabaza y pimiento ect.

Control cultural: La medida preventiva más importante es la eliminación de plantas, frutos enfermos. Eliminación de los restos vegetales anteriores y malas hierbas, así como medidas para evitar humedades relativas altas, entre las que se encuentran la buena ventilación del invernadero, evitar marcos de plantación densos entre otros. Es recomendable la rotación de cultivos, y el acolchado con plástico negro. Mediante solarización se puede eliminar gran parte de los restos de enfermedad que pueda existir en el suelo aletargada.

Control químico: Como medidas químicas se puede realizar una desinfección del suelo una vez que se ha eliminado el cultivo. Se recomendable realizar tratamientos de prevención en aquellos cultivos que se consideren de riesgo, así como en zonas en que se dé la enfermedad de forma continua y bajo condiciones favorables para el hongo, es decir, en floración con humedades relativas altas (González *et al.*, 2004).

- **Mildiu (*Phytophthora infestans*)**

Descripción: Las condiciones para que se produzcan infecciones del mildiu son que, además de llover, la hoja permanezca mojada la mayor parte del día, lo que normalmente requiere de cielos cubiertos y plantas con un cierto grado de desarrollo ("más adelantadas"). Lo más recomendable en estos momentos es buscar en cada parcela la posible presencia de plantas con síntomas del hongo, que son: manchas grandes aceitosas de color achocolatado en hojas y tallos. Cuando aparecen en frutos estos presentan un oscurecimiento en la zona apical (Agraria, 2004).



Figura 3.12 Daño causado por el Mildiu. Foto: Agraria, 2004.

Reproducción: Las infecciones suelen producirse a partir del cáliz, por lo que los síntomas cubren la mitad superior del fruto. La dispersión se realiza por lluvias y vientos, riegos por aspersión, rocíos y gotas de condensación. Las condiciones favorables para su desarrollo son: altas humedades relativas (superiores al 90%) y temperaturas entre 10°C y 25°C.

Síntomas del cultivo: En jitomate ataca a la parte aérea de la planta y en cualquier etapa de desarrollo. En hojas aparecen manchas irregulares de aspecto aceitoso al principio que rápidamente se necrosan e invaden casi todo el foliolo. Alrededor de la zona afectada se observa un pequeño margen que en presencia de humedad y en el envés aparece un fieltro blancuzco poco patente. En tallo, aparecen manchas pardas que se van agrandando y que suelen circundarlo. Afecta a frutos inmaduros, manifestándose como grandes manchas pardas, vítreas y superficie y contorno irregular.

Cultivos que ataca: Este hongo es el agente causal del mildiu del jitomate y de la patata, afectando a otras especies de la familia de las solanáceas.

Control biológico: Los tratamientos con productos de contacto son suficientes para evitar que se desarrolle el hongo (preventivos) por lo que es aconsejable tener protegidas todas las plantaciones, pero principalmente las más adelantadas y sobre todo si se prevén lluvias de nuevo.

Control químico: Benalaxil, Fosetil-Al, Mefenoxam, Oxadixil, etc.

- **Alternariosis** (*Alternaria solani*).

Descripción: Prevalece durante la estación de lluvias, cuando ocurren temperaturas y humedad ambiental altas. Daña preferentemente las hojas más viejas, y perjudica en mayor grado las plantaciones que han sido abonadas pobremente. El hongo produce, en principio manchas pequeñas de color marrón oscuro a negro. Más tarde dichas manchas crecen a modo de anillos concéntricos, a medida que muere el tejido afectado presenta forma redonda ovalada o angular. Cuando la humedad prevalece, favorece la producción de esporas del hongo y se originan numerosas infecciones en las hojas superiores. En las ramas y tallos los síntomas se asemejan a los del follaje. En los tubérculos de papa las infecciones se desarrollan a manera de lesiones lisas, hundidas, por los bordes del tejido sano ligeramente levantado.



Figura 3.13 Daño en hoja de jitomate provocado por *Alternaria solani*. Foto:

Reproducción: Fuentes de dispersión: solanáceas silvestres y cultivadas, semillas infectadas, restos de plantas enfermas. Las conidias pueden ser dispersadas por salpicaduras de agua, lluvia, etc., o el viento. Rango de temperatura: 3-35°C. La esporulación está favorecida por noches húmedas seguidas de días soleados y con temperaturas elevadas. (León, 2001).

Síntomas del cultivo: En plántulas produce un chancro negro en el tallo a nivel del suelo. En pleno cultivo las lesiones aparecen tanto en hojas como tallos, frutos y pecíolos. En hoja se producen manchas pequeñas circulares o angulares, con marcados anillos concéntricos. En tallo y pecíolo se producen lesiones negras alargadas, en las que se pueden observar a veces anillos concéntricos. Los frutos son atacados a partir de las cicatrices del cáliz, provocando lesiones pardo-oscuras ligeramente deprimidas y recubiertas de numerosas esporas del hongo.

Cultivos que ataca: Afecta principalmente a solanáceas y especialmente a jitomate y patata.

Control biológico: *Trichoderma harzianum* (al suelo).

Control químico: Benalaxil, Captafol, Clorotalonil, Cimoxanil, Dichlofluanid, Difenconazole, Folpet, Fosetil-Al, Imazil, Iprodione, Mancozeb, Maneb, Metiram, Oxidocloruro de Cobre, Propineb, Trifenil hidroxido de estaño, Zineb.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Ubicación del estudio.

El presente trabajo se realizó en el Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, ubicado en el municipio de El Marqués, Querétaro, México (Figura 4.1).



Figura 4.1 Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro.

4.2 Material biológico.

4.2.1 Vegetal.

Se utilizaron hojas secas de *Lippia graveolens* (orégano) de las poblaciones silvestres del Municipio de Peñamiller, Qro., que fueron recolectadas en los meses de Agosto y Septiembre, proporcionadas por la Asociación “Semidesierto de Peñamiller, ARIC”.



Figura 4.2 Planta de orégano (*Lippia graveolens*) en floración.

4.2.2 Patógenos.

Los hongos y bacterias fitopatógenos fueron proporcionados por el Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ, por el M. en C. Fidel Landeros Jaime y por la Biol. Kruskaia K. Caltzontzin Fernández. Se trabajó con cepas de las especies *Cladosporium cladosporoide* y *Aspergillus niger* (hongos) y *Xanthomonas campestris* (bacteria).

4.3 Extractos vegetales.

Los extractos vegetales de orégano (*Lippia graveolens*), que se utilizaron en el presente trabajo de investigación fueron: extracto total, aceites esenciales y aguas madre, los cuales se describen a continuación.

4.3.1 Extracto total. Se llevo a cabo a partir de hojas secas de orégano por el método de presurizado, el cual consistió en colocar en una olla de presión Marca T-FAL con capacidad para 4.5, 300 g del material vegetal seco de hoja de orégano (*Lippia graveolens*), 909 ml de agua destilada y 91 ml de alcohol de 96°. Posteriormente se colocó la olla en la estufa, hasta que la válvula comenzó a desprender vapores, se mantuvo a fuego lento de 10 a 15 minutos y posteriormente se retiró y se dejó enfriar sin destapar la olla. Por último, se filtró el líquido obtenido y se almacenó en un envase de vidrio color ámbar herméticamente cerrado y se guardó en el refrigerador. De esta manera quedó listo el producto para su utilización (Figura 4.3).

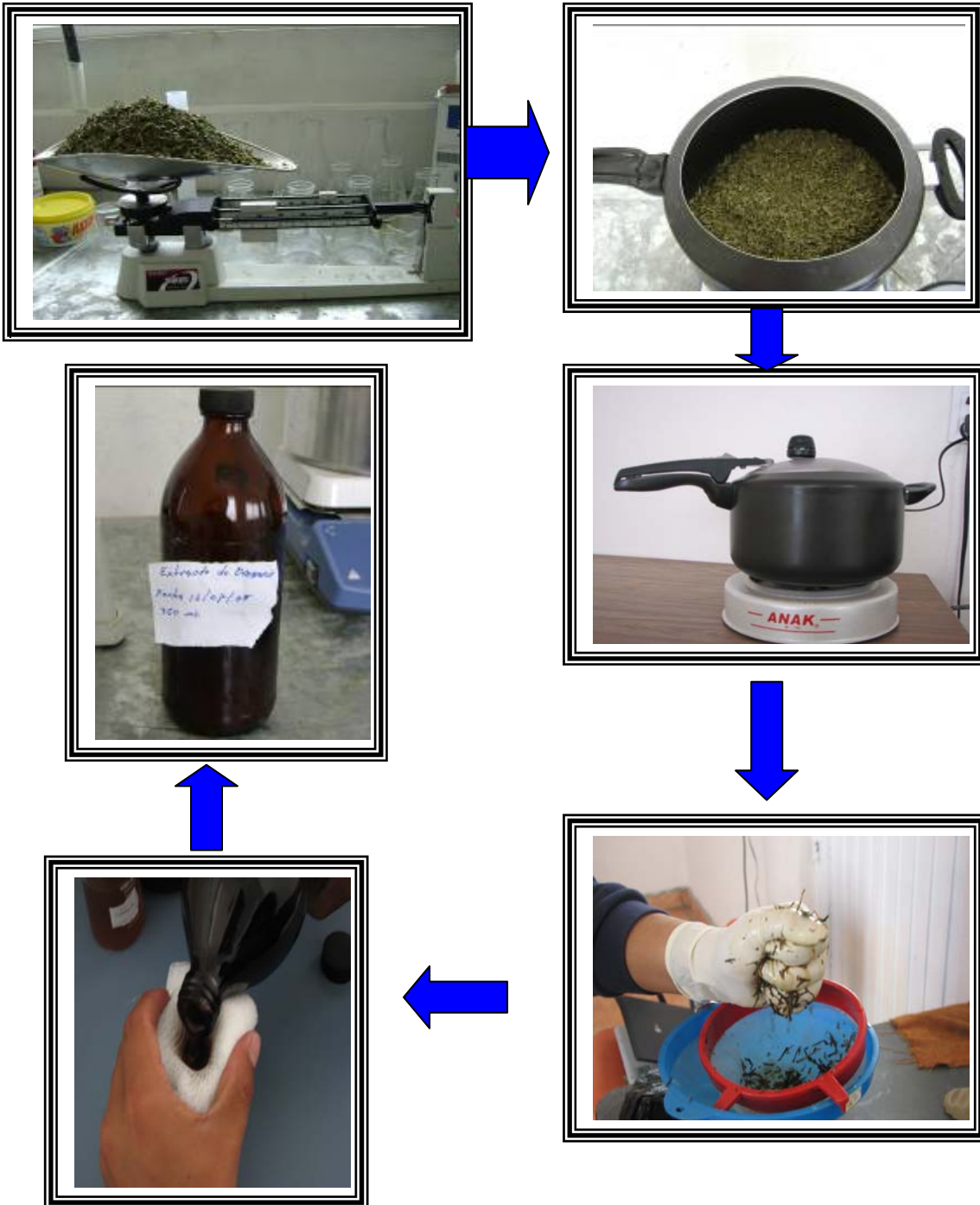


Figura 4.3 Procedimiento para obtener extracto total de orégano a partir del método de presurizado.

4.3.2 Aceites esenciales: Se llevaron a cabo pruebas preliminares con el método de arrastre de vapor (Anexo A), pero con no muy buenos resultados, por lo cual los aceites que se utilizaron se obtuvieron por el método de hidrodestilación. Se utilizaron tres matraces redondos de base plana de una capacidad de 1000 ml, en cada uno de ellos se pusieron 50 gr de hoja seca de orégano y 500 ml de agua destilada. Posteriormente se colocaron en un recipiente con arena finamente cernida, se les puso la trampa de aceite y los refrigerantes, conectados entre sí y con una bomba que recirculaba el agua. Cada recipiente se puso sobre un plato caliente y se prendió, primero se dejó calentar la muestra y a partir de iniciado el proceso de destilación se dejó 2.30 horas. Se dejaron enfriar los materiales y se obtuvo el aceite esencial (Figura 4.4).

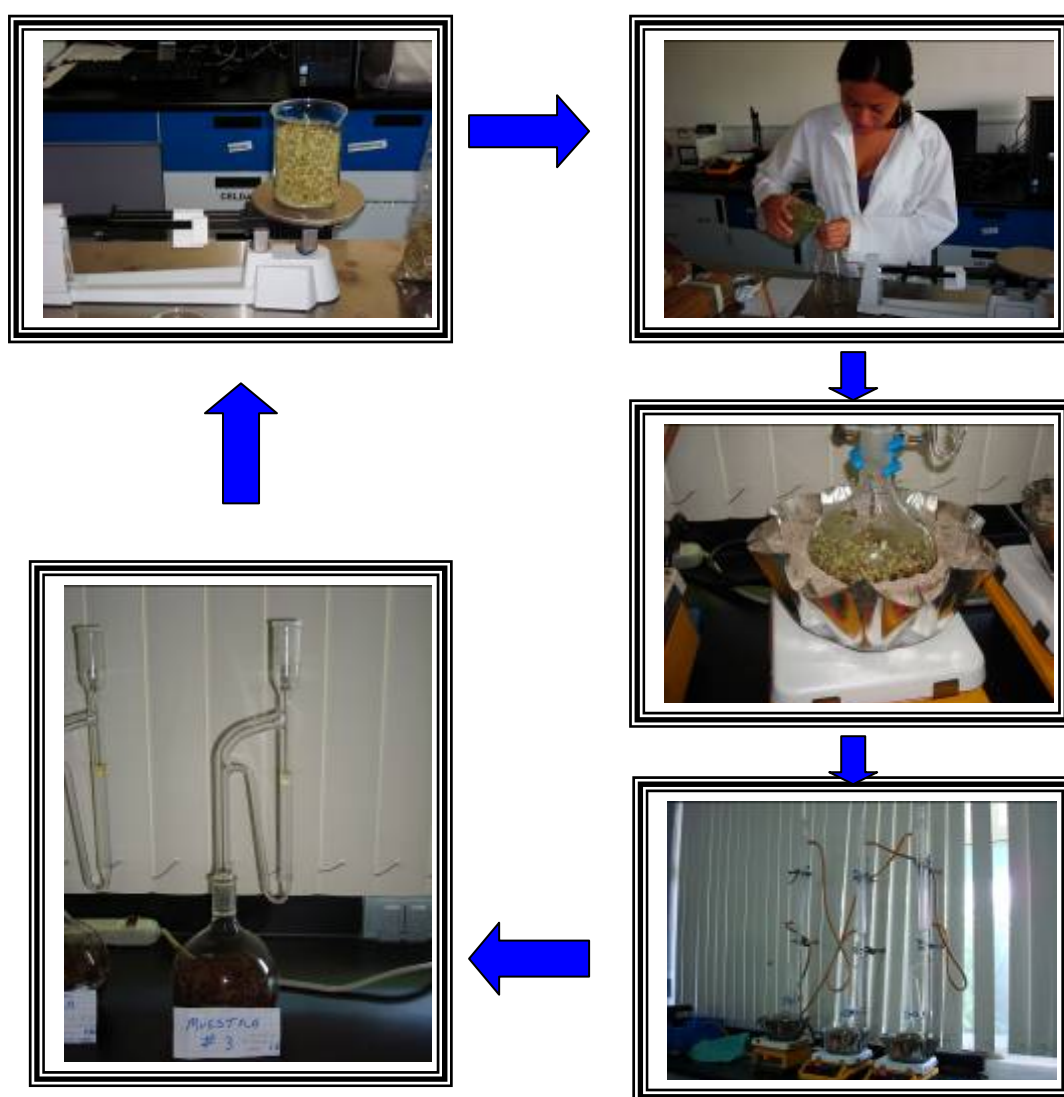


Figura 4.4 Método de hidrodestilación para la obtención de aceites esenciales y aguas madre.

4.3.3 Aguas madre. Estas aguas se obtuvieron en el proceso de hidrodestilación antes mencionado y es el agua que queda dentro del matraz junto con la hoja de orégano (Figura 4.5).



Figura 4.5 Separación de las aguas madre de orégano del proceso de hidrodestilación.

4.4 Pruebas de inhibición.

Para el aislamiento de los hongos patógenos se usó el medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA). La técnica de preparado de las cajas petri con PDA consiste en poner 39 gr de PDA a un matraz Erlen-Meyer de dos litros y posteriormente agregar un litro de agua destilada y poner a hervir en una estufa eléctrica para que se disuelva completamente el agar en el agua. Posteriormente el matraz con el medio de cultivo se pone a esterilizar a 15 libras de presión durante 20 minutos en una autoclave. Finalmente se deja enfriar el medio de cultivo y se vacía en cajas petri, las cuales se dejan solidificar para ahí sembrar al hongo, se sellan y se dejan en incubación a 28°C por una semana. (Figura 4.6).



Figura 4.6 Proceso de elaboración de la concentración a utilizar para la siembra de hongos.



Figura 4.7 La solución del extracto se vertió en todas las cajas petri donde se hizo la siembra.

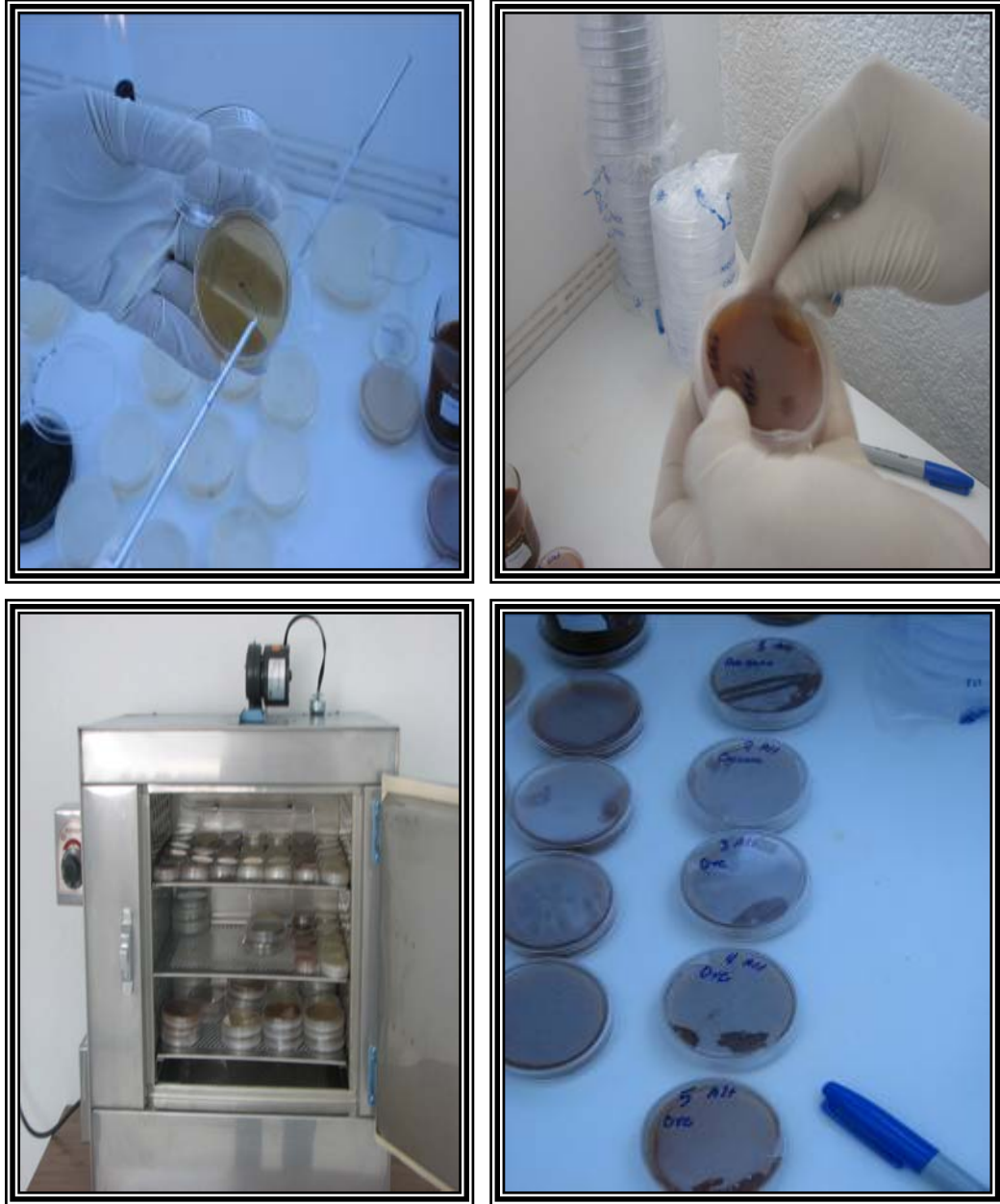


Figura 4.8 Proceso de siembra, sellado y incubación de los tratamientos de los hongos.

4.5 Cuantificación de fenoles y flavonoides.

Se cuantificaron los fenoles y flavonoides del extracto total y el aceite de orégano, esto se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Nutracéuticos de la Facultad de Química de la UAQ.

4.5.1 Fenoles. El contenido total de fenoles fue determinado por el método de colorimetría Folin Ciocalteu descrito por Dewanto y colaboradores (2002). Se colocaron 100 µl de las diluciones de extractos, se mezclaron con 400 µl de agua destilada y 250 µl del reactivo de Folin a 1N. Después de 5 min de mezclados, se agregaron 1.25 ml de una solución al 20% de Na₂CO₃ y se dejaron durante dos horas. La absorbancia se midió contra un blanco preparado en 760 nm. Los resultados se expresan como miligramos de ácido gálico equivalentes por ml de extracto.

4.5.2 Flavonoides. El contenido total de flavonoides fue determinado por el método descrito por Liu y colaboradores (2002). Se colocaron 75 µl de una solución al 5% de NaNO₂, se agregó a 100 µl de dilución del extracto. Después de 6 min, se agregaron 150 µl de una solución AlCl₃.6H₂O al 10% y la mezcla se dejó por 5 min más. Se adicionaron 0.5 µl de NaOH 1M, y se aforó a 2.5 l con agua destilada. La solución se mezcló y la absorbancia se midió contra un blanco preparado en 510 nm. Los resultados se expresan como miligramos de equivalentes (+)-catechin por ml de extracto.

4.6 Diseño experimental.

El diseño experimental que se empleó fue un análisis a los testigos: el absoluto y los productos orgánicos, extracto de orégano, aguas madre de orégano y aceite esencial del orégano. Cada tratamiento tuvo 8 repeticiones.

4.7 Análisis de resultados.

Para determinar si existían diferencias significativas en cada uno de los tratamientos, se realizó un análisis de varianza y se aplicó la prueba de comparaciones de medias de Tukey al nivel de significancia del 0.05%.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Extractos vegetales.

5.1.1 Extracto total.

El total de extracto que se obtuvo una vez terminado todo el proceso de extracción fue de 380 mL (Figura 5.1) de los 1000 mL colocados, es decir en extracto nos queda el 38%. Si consideramos lo anterior, de un kilo de hoja de orégano seco podemos obtener 1226 mL de extracto.

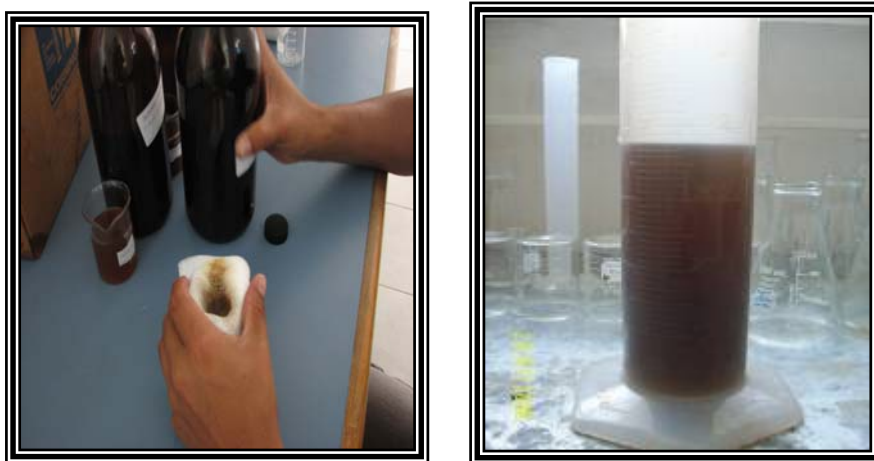


Figura 5.1 Envasado y medición del extracto total de orégano obtenido por el método de presurizado.

5.1.2 Aceites esenciales. Como se mencionó en la metodología, se hicieron pruebas preliminares para la obtención de aceite, por el método de arrastre por vapor obtuvimos una cantidad de 500 microlitos es decir medio mL de aceite esencial, a partir de 50 g de materia seca, (detalles en Anexo 1). Con el método de hidrodestilación a partir de 150 g de hoja se obtuvieron 3 mL de aceite esencial lo cual representa el 0.3% (Figura 5.2). El rendimiento fue menor que el reportado por Burguette (2006), que fue de 6.5%.



Figura 5.2 Obtención del aceite de orégano por el método de hidrodestilación

5.1.3 Aguas madre.

De todo este proceso se obtuvieron 480 mL, de aguas madre durante la hidrodestilación y con una concentración de agua de 500mL por los tres matrases con un total de 1500 mL. El cual se le puso fecha y hora de terminación.



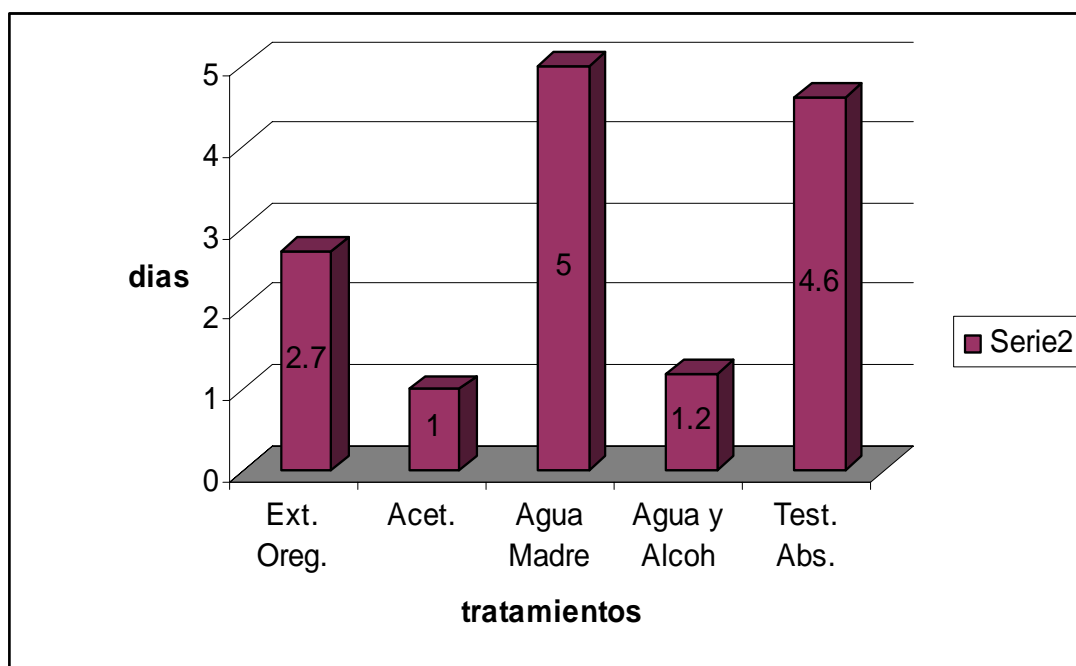
Figura 5.3 Colado de las aguas madre y envasado.

5.2 Pruebas de inhibición.

En el Cuadro 5.1 se muestran el crecimiento radial del hongo, se presenta la media y la desviación estándar de las ocho repeticiones que se llevaron a cabo. Los resultados muestran que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos (Cuadro 5.2). Los datos de inhibición que se obtuvieron en la siembra de los hongos se comenzaron a presentar desde el segundo día y las reacciones que se encontraron en las cajas petri fueron que todos los tratamientos que contenían el extracto el crecimiento se dio de una forma un poco lenta del hongos, en cambio en las aguas madres el crecimiento fue muy rápido pero en comparación con el aceite en el segundo día el hongo creció muy poco y para la segunda y tercera medición el crecimiento se había detenido por completo es decir que de los tres extractos el que mejor efecto a tenido hasta este momento es el de aceite ya que este si a podido detener el desarrollo de dichos hongos.

Cuadro 5.1 Crecimiento del hongo *Aspergillus niger* durante los cinco días después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamientos	<i>Aspergillus niger</i>				
Tratamientos	Días después de la aplicación				
	1	2	3	4	5
Extracto de orégano	1	1.3	1.6	2.1	2.7
Testigo absoluto	2	2.5	4	4.5	4.6
Aceite de orégano	1	1	1	1	1
Agua madre orégano	2.1	3.1	5	5	5
Agua y alcohol	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2



Cuadro 5.2 Resultados obtenidos de los diferentes tratamientos empleados en el hongo (*Aspergillus niger*), durante los cinco días de aplicación.

Cuadro 5.3 Análisis de varianza del crecimiento del hongo (*Aspergillus niger*), En diferentes días de crecimiento.

Tratamiento	DÍA		
	1	2	3
Aguas Madre de aceite	0.094± 0.306	0.259± 0.509	1.101± 1.049
Testigo absoluto	0.122± 0.349	0.228± 0.477	0.368± 0.606
Extracto de orégano	0.024± 0.155	0.025± 0.159	0.052± 0.229
Aceite de orégano	0.042± 0.207	0.042± 0.207	0.042± 0.207
Agua y Alcohol	0.045± 0.213	0.045± 0.213	0.045± 0.213

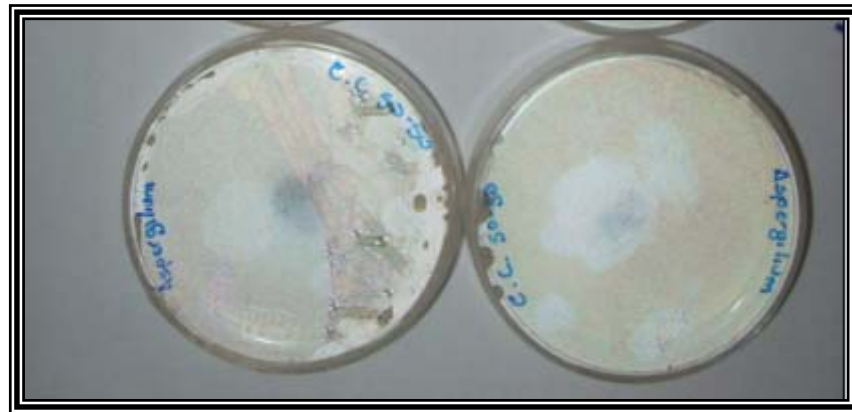


Figura 5.4 Comparación del crecimiento del hongo con el extracto de aceite y el testigo.

Cuadro 5.4 Crecimiento de la bacteria (*Xanthomona campestris*) durante los cinco días después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamientos	<i>Xanthomona campestris</i>				
Tratamientos	Días después de la aplicación				
	1	2	3	4	5
Extracto de orégano	SI	SI	SI	SI	SI
Testigo absoluto	SI	SI	SI	SI	SI
Aceite de orégano	SI	SI	SI	SI	SI
Agua madre orégano	SI	SI	SI	SI	SI
Agua y alcohol	SI	SI	SI	SI	SI

5.3 Fenoles y flavonoides.

En el (Cuadro 5.4), se menciona cual fue el total de fenoles y flavonoides que se obtuvieron en la primera muestra faltando el segundo resultado para comparar si tiene mejor concentración de fenoles y flavonoides.

Cuadro 5.4 Fenoles y Flavonoides Presentes en Aguas Madre y Aceite Esencial de Orégano Obtenidos por Hidrodestilación (Fanny)

Extracto	Fenoles¹	Flavonoides²
Muestra de oregano	μg Equivalentes de ácido gálico/ml	μg Equivalentes de catequina /ml
Extracto total de Orégano (1ra. muestra)	10.734 \pm 0.385	5.535 \pm 0.279
Aceite esencial	14110.15 \pm 487.370	0
Aguas madre	5881.12 \pm 790.898	54306.59 \pm 3667.11

5.3.1 Resultados De La Evaluación Del Crecimiento Del Hongo Fitopatogeno *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporoide* y En Diferentes Extractos.(Cuadro).

Al realizar el análisis de los datos obtenidos se encontró que existe una diferencia entre los tratamientos con la prueba de tukey, las aguas madre y el testigo no existio diferencia significativa en comparación con los tratamientos del extracto y del aceite. El que tuvo mayor inhibición en el crecimiento del hongo *Aspergillus niger* fue el aceite teniendo hasta el Quinto día de medición un crecimiento estático, y para el hongo *Cladosporium cladosporoide* fueron los dos tanto el aceite y las aguas madre, en comparación con los otros extractos estos si tuvieron crecimiento constante, ya que en las aguas madre el crecimiento fue acelerado (cuadro 5.8). Los resultados que se han obtenido nos indica que el aceite es el que ha tenido mejores resultados hasta este momento, se realizo un análisis por día que indico el crecimiento que tuvo el hongo durante los cinco días que se estuvieron midiendo, a estos datos sele realizo un análisis con el programa de SAS, con un alpha de (P<0.05) debe ser mayor. (Cuadro 5.6).

Cuadro 5.5 Cálculo de medias y desviación estándar del crecimiento del hongo (*Aspergillus niger*), en diferentes días de crecimiento.

Tratamiento	DÍA		
	1	2	3
Aguas Madre de aceite	0.094± 0.306	0.259± 0.509	1.101± 1.049
Testigo absoluto	0.122± 0.349	0.228± 0.477	0.368± 0.606
Extracto de orégano	0.024± 0.155	0.025± 0.159	0.052± 0.229
Aceite de orégano	0.042± 0.207	0.042± 0.207	0.042± 0.207
Agua y Alcohol	0.045± 0.213	0.045± 0.213	0.045± 0.213

Cuadro 5.6 Resultados obtenidos de Análisis estadístico mediante la prueba de Tukey con un alpha de $p < 0.05$ de los 3 extractos que se aplicaron al hongo para la inhibición del crecimiento.

Tratamiento	Repeticiones	Medias
Aguas madre de oregano	8	3.5125 (a)
Testigo	8	3.3625 (a)
Extracto de orégano	8	1.3125 (b)
Aceite de orégano	8	0.7000 (b)
Agua y Alcohol	8	0.6500 (b)

Cuadro 5.7 Duración del crecimiento del hongo *Aspergillus niger* durante cinco días con la aplicación de los diferentes extractos.

Tratamientos	Repeticiones	Crecimiento en milímetros
Aguas madre de orégano	8	3.3175 (a)
Testigo	8	3.1350 (a)
Extracto de orégano	8	1.3400 (b)
Aceites de orégano	8	0.7975 (bc)
Agua y Alcohol	8	0.6450 (c)

Nota: Medias con la misma carta o letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con Tukey al 0.05 al nivel de significancia.

En cuanto al crecimiento de *Aspergillus niger*, en las cajas petri, se pudo observar que el tratamiento con menos crecimiento fue el aceite de orégano con 6 centímetros durante el tercer día de observación, seguido por la solución de agua y alcohol que tuvo un crecimiento de 1 centímetro, sin embargo las aguas madre no tuvieron ninguna inhibición en el crecimiento del hongo teniendo este al tercer día fue de 50 centímetros, al igual que el tratamiento de alcohol que no presento crecimiento del hongo (cuadro 5.7).

Cuadro 5.8 crecimiento de *Aspergillus niger*, en cajas petri después de la aplicación de los tratamientos Amazcala 2008.

Tratamientos	<i>Aspergillus niger</i>				
Tratamientos	Días después de la aplicación				
	1	2	3	4	5
Extracto de orégano	10	13	16	21	27
Testigo absoluto	2	25	4	45	46
Aceite de orégano	6	6	6	6	6
Agua madre orégano	21	31	50	50	50
Agua y alcohol	10	10	10	10	10

Estos resultados indican que los diferentes compuestos fenolicos de los extractos de aceites pueden tener una capacidad antimicrobiana, por lo que es posible la inhibición del hongo *Aspergillus niger*.

En cuanto al crecimiento de *Cladosporium cladosporoide*, en las cajas petri, se pudo observar que los tratamientos con menos crecimiento fue el extracto de orégano, aceite de oregano y el agua y alcohol con 0 crecimiento, sin embargo las aguas madre no tuvieron ninguna inhibición en el crecimiento del hongo teniendo este al quinto día fue de 50 centímetros, al igual que el testigo que presentó el crecimiento del hongo (cuadro 5.9).

Cuadro 5.9 crecimiento de *Cladosporium cladosporoide*, en cajas petri después de la aplicación de los tratamientos Amazcala 2008.

Tratamientos	<i>Cladosporium cladosporoide</i>				
Tratamientos	Días después de la aplicación				
	1	2	3	4	5
Extracto de orégano	0	0	0	0	0
Aceite de orégano	0	0	0	0	0
Agua madre orégano	0	7	9	10	10
Agua y alcohol	0	0	0	0	0
Testigo absoluto	0	16	24	22	23

Estos resultados indican que los diferentes compuestos fenolicos de los extractos de aceites pueden tener una capacidad antimicrobiana, por lo que es posible la inhibición del hongo *Cladosporium cladosporoide*.

Cuadro 5.10 Resultados obtenidos de Análisis estadístico mediante la prueba de Tukey con un alpha de $p < 0.05$ de los 3 extractos que se aplicaron al hongo para la inhibición del crecimiento.

Tratamiento	Repeticiones	Medias
Extracto de orégano	5	0.400 (c)
Aceite de orégano	5	0.000 (c)
Aguas madre de oregano	5	5.800 (b)
Agua y Alcohol	5	0.000 (c)
Testigo	5	17.080 (a)

Cuadro 5.11 Duración del crecimiento del hongo *Cladosporium cladosporoide* durante cinco días con la aplicación de los diferentes extractos.

Tratamientos	Repeticiones	Crecimiento en milímetros
Aguas madre de orégano	5	9.0800 (a)
Testigo	4	6.7200 (b)
Extracto de orégano	3	5.3600 (b)
Aceites de orégano	2	2.1200 (c)
Agua y Alcohol	1	0.000 (c)

Nota: Medias con la misma carta o letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con Tukey al 0.05 al nivel de significancia.

VI. CONCLUSIONES

Con base en los resultados que se obtuvieron en el análisis de varianza de (SAS). De los extractos, el que mostró una mayor actividad fue el extracto total de oregano, aceite de oregano, seguido por el de alcohol y finalmente el de las aguas madre fue de esperar que este ultimo extracto tuviera una actividad inhibitoria menor ya que fue obtenido del material de donde se saco el aceite. De acuerdo al análisis estadístico se observaron diferencias significativas entre los extractos utilizados como tratamientos, la inhibición del hongo *Aspergillus niger* y *Cladosporium cladosporoide* se pudo observar al reducir el crecimiento miceliar en este hongo por lo que el aceite puede ser empleado como un agente fungicida.

La aplicación del extracto total y el aceite esencial de orégano como un agente de control, podría minimizar las pérdidas que pueden ocasionar las diversas enfermedades en cultivos de importancia y por consiguiente podría aumentar la productividad al reducir los costos por el empleo de agroquímicos, con una notable disminución de la contaminación ambiental.

LITERATURA CITADA

Mora, M, 2007, Alternativas del forraje para el ciclo otoño- invierno en el estado de Queretaro. 96 – 97 pp. EN: CEDEA, 2007. Anuario Estadístico del sector rural.

Aspectos legales y de experiencias en la explotación y comercialización del oregano.

Oregano Aprovechamiento, cultivo e industrialización en México.

Federico Gómez Lorence, Ricardo Almedia Martínez, Moisés Bejar Hinojosa.

Obtencion del aceite de oregano por el método de arrastre con vapor de agua.

Jesús Martín Hernandez Burguette, Edson Animadab Carrillo Caballero y Enrique Valdez Ruvalcaba.

Proceso de extracción de aceites esenciales de oregano. (*Lippia graveolens*).

Ing. Armando Zuñiga Sánchez,

Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de Oregano (*Lippia graveolens*).

Hernandez-Zamudio, G., Guerrero, R., M., Luevano M., s. Blanco C.,E., Alonzo, R., S.

ACLO (Acción Cultural Loyola)Algunos insecticidas y fungicidas caseros. Perú y Bolivia.

Barros, S.T.; Oliveira N.T. & Maria, L.C. Efeito do estrato de bulbo de alho, (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial e germinacao de conidios de alguns fungos fitopatogénicos. Fitopatología Brasileira, Brasilia, v.18 (Suplemento) agosto,1993. p.302.

Hoja a hoja del MAELA. Revista del movimiento agroecológico de América Latina. Asunción – Paraguay. 44p. año 4. n°6 (II época)-agosto de 1994.

Huerta orgánica. Alter Vida. Centro de estudios y formación para el ecodesarrollo. 30p.

Informe Final : Investigación sobre plaguicidas utilizados en productos de huerta en el Departamento Central / Equipo responsable: Jorge Abbate (... Et all). Asunción: Centro de Estudios para el Desarrollo ALTERVIDA, 1991. 176 p.

- Diario Oficial de la Federación. 24 de Septiembre de 1998. Reglamento de la Ley Federal de Variedades Vegetales. Cámara de Diputados, H. Congreso de la Unión, Secretaría General, Secretaria de Servicios Parlamentarios, Dirección General de Bibliotecas. Pp. 16
- Diccionario De Especialidades Agroquimicas. 1999. 9ª Edición. PLM Editores, México. Pp. 283, 463, 652, 699.
- Feung C. S., Hamilton R. H., Mumma R. O. 1973. Metabolism of 2,4-diclorophenoxyacetic acid. V identification of metabolites in soybean callus tissue culture. J agric food. Chem. 21: 637-640. En : Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas, propiedades y acción Vol I, Leszek S. Jankiewicz. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, instituto de horticultura. Ediciones mundi prensa, p. 37.
- Feung C. S., Hamilton R. H., Mumma R. O. 1977. Metabolism of indole-3-acetic. IV. Biological properties of aminoacid conjugates. Plant Physiol., 59: 91-93 En : Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas, propiedades y acción (Vol. I), Leszek S. Jankiewicz. Universidad Autónoma Chapingo, Departamentoto de Fitotecnia, instituto de horticultura. Ediciones Mundi Prensa, p. 37.
- M.C. Ramon Silva Vazquez, Folleto Técnico El orégano (los nuevos caminos de la Agricultura), Centro de Investigación para los Recursos Naturales, p. 13-21.
- Q.M.C. Cynthia Cristina Arcila Lozano, Actividad Quimioprotectora y Caracterizacion Quimica Parcial de Oregano (*Lippia graveolens Kunth*), p. 9- 12.
- PERFECTO Miguel Martínez Domínguez, Deteccion y Evaluacion del Oregano (*Lippia berlandieri Shower*) en las zonas del norte de Jalisco y Suroeste de Zacatecas, p.6-22.

ANEXOS

ANEXO 1. Método de obtención del aceite y de las aguas madres con el método de arrastre de vapor.



Primer método utilizado para la obtención del aceite esencial y las aguas madre hechos en el laboratorio de Química en la UAQ.

Metodología: se realizó la destilación por arrastre de vapor con agua y con un punto de ebullición por arriba de los 100°C , los vapores del producto volátil, fueron arrastrados por vapor de agua sobrecalentado. El líquido del producto en cuestión hirvió a una temperatura inferior a la de su punto de ebullición, ya que la presión de sus vapores junto con la presión atmosférica, dan lugar a una destilación, en donde el producto obtenido fue una mezcla de agua con aceite, posteriormente el agua se separó del aceite teniendo como resultado la cantidad de 0.5 ml de producto..

ANEXO 2. Método de cuantificación de los Fenoles y Flavonoides del aceite.



Proceso de cuantificación de los fenoles y flavonoides que contiene el extracto total y el aceite de oregano.

ANEXO 3 sembrado y incubación de los hongos en las instalaciones de los invernaderos de amazcala.



Sellado y incubación de las cajas petri en la estufa marca RIOSSA, Modelo HSF-41 EUA, con una temperatura de 28°C.

ANEXO 4 resultados completos de los analisis estadisticos completamente al azar
(Tukey)

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

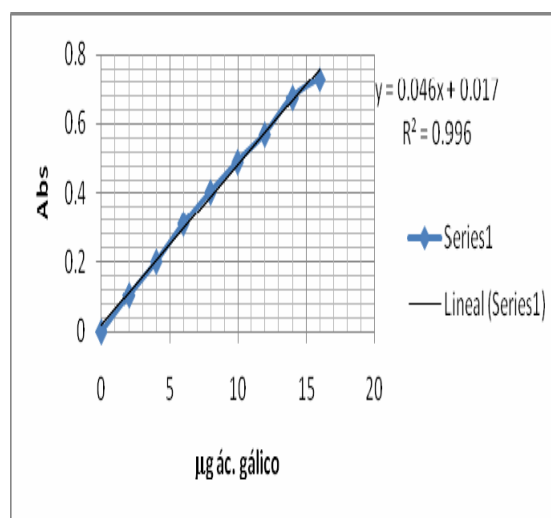
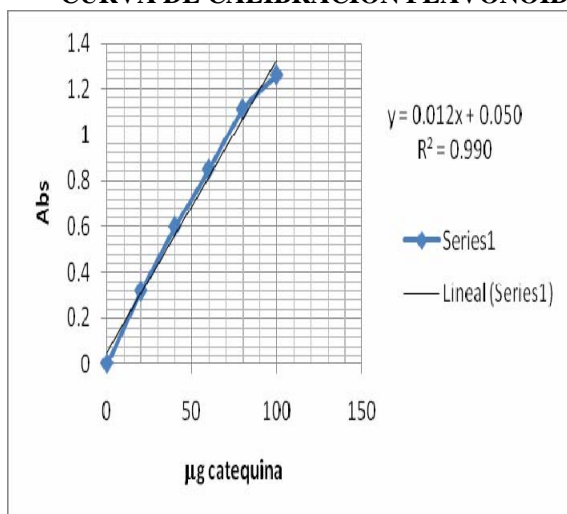
RESUMEN	extracto	aceite	aguas madre	testigo abs	alcohol y agua	Total
<i>Dia 3</i>						
Cuenta	8	8	8	8	8	40
Suma	9.5	5.6	28.1	26.9	5.2	75.3
Promedio	1.1875	0.7	3.5125	3.3625	0.65	1.8825
Varianza	0.052678571	0.042857143	1.10125	0.36839286	0.045714286	1.980967949
Desviación estandar	0.229518129	0.207019668	1.049404593	0.60695375	0.213808994	1.407468632
<i>DIA 2</i>						
Cuenta	8	8	8	8	8	40
Suma	9.1	5.6	22.6	18.1	5.2	60.6
Promedio	1.1375	0.7	2.825	2.2625	0.65	1.515
Varianza	0.025535714	0.042857143	0.259285714	0.22839286	0.045714286	0.893615385
Desviación estándar	0.159798981	0.207019668	0.509201055	0.47790465	0.213808994	0.945312321
<i>Dia 1</i>						
Cuenta	8	8	8	8	8	40
Suma	7.1	5.6	16.5	14.6	5.2	49
Promedio	0.8875	0.7	2.0625	1.825	0.65	1.225
Varianza	0.024107143	0.042857143	0.094107143	0.12214286	0.045714286	0.424487179
Desviación estandar	0.155264751	0.207019668	0.306768875	0.34948942	0.213808994	0.651526806
<i>Total</i>						
Cuenta	24	24	24	24	24	
Suma	25.7	16.8	67.2	59.6	15.6	
Promedio	1.070833333	0.7	2.8	2.48333333	0.65	
Varianza	0.049112319	0.039130435	0.808695652	0.65536232	0.04173913	
Desviación estandar	0.221612993	0.197814142	0.89927507	0.80954451	0.204301567	

ANÁLISIS DE
VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	8.686166667	2	4.343083333	25.6319118	8.60736E-10	3.082852016
Columnas	100.687	4	25.17175	148.558069	2.68492E-42	2.45821013
Interacción	10.1855	8	1.2731875	7.51406942	6.86382E-08	2.02777378
Dentro del grupo	17.79125	105	0.169440476			
Total	137.3499167	119				

Anexo 5 Fenoles y Flavonoides Presentes en Aguas Madre y Aceite Esencial de Orégano Obtenidos por Hidrodestilación (Fanny)

CURVA DE CALIBRACIÓN FLAVONOIDES CURVA DE CALIBRACION FENOLES



Valores curva de calibración Valores
curva de calibración

µg catequina	Abs	DE
0	0.00016667	0.00015275
20	0.31626667	0.02906584
40	0.59636667	0.00250067
60	0.84726667	0.01755173
80	1.10963333	0.0430737
100	1.25726667	0.02272319

µg de Acido gálico	Abs promedio	DE
0	0	0
2	0.10436667	0.00406489
4	0.20036667	0.0132455
6	0.3099	0.01685734
8	0.40383333	0.00196554
10	0.4903	0.00277849
12	0.5691	0.00253574
14	0.6736	0.0072856
16	0.72853333	0.00155027

Muestra de orégano	FENOLES	FLAVONOIDES
	µg Equivalentes de ácido gálico/ml	µg Equivalentes de catequina /ml
Aceite esencial	14110.15±487.370	0
Aguas madre	5881.12±790.898	54306.59 ± 3667.11