



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y
TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA**

CENTRO DE POSGRADOS

MAESTRIA EN AGRICULTURA Y AGRONEGOCIOS SOSTENIBLES

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MAGISTER EN AGRICULTURA Y AGRONEGOCIOS SOSTENIBLES**

**TEMA: “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS DEL SAUCE
(*Salix babylonica*) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO EN
CÍTRICOS INJERTADOS, EN EL CANTÓN MIRA PROVINCIA DEL
CARCHI”**

AUTOR: PALMA MERA, JEYSONN MARCELO

DIRECTOR: ING. SORIA IDROVO, NORMAN AURELIO M.Sc.

SANGOLQUÍ

2 019



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y
TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA**

CENTRO DE POSTGRADOS

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS DEL SAUCE (*Salix babylonica*) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO EN CÍTRICOS INJERTADOS, EN EL CANTÓN MIRA PROVINCIA DEL CARCHI” fue realizado por el Ing. PALMA MERA JEYSONN MARCELO, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 11 de diciembre 2 018

ING. SORIA IDROVO, NORMAN AURELIO M.Sc.

C.C.: 1801206572



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y
TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA**

CENTRO DE POSTGRADOS

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **PALMA MERA JEYSONN MARCELO**, con cédula de ciudadanía n.º 0401720958, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS DEL SAUCE (*Salix babylonica*) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO EN CÍTRICOS INJERTADOS, EN EL CANTÓN MIRA PROVINCIA DEL CARCHI”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 11 de diciembre 2 018



ING. JEYSONN MARCELO PALMA MERA

C.C.: 0401720958



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y
TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA**

CENTRO DE POSTGRADOS

AUTORIZACIÓN

Yo, **PALMA MERA JEYSONN MARCELO** autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS DEL SAUCE (*Salix babylonica*) SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO EN CÍTRICOS INJERTADOS, EN EL CANTÓN MIRA PROVINCIA DEL CARCHI”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 11 de diciembre 2 018

ING. JEYSONN MARCELO PALMA MERA

C.C.: 0401720958

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mi familia, a mi hijo Esteban, por ser la motivación diaria y constante en mi vida.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y la Virgencita de la Caridad por todos los favores recibidos.

A mis familiares y amigos que han estado conmigo en los malos momentos, también en los buenos.
A mi primo Francisco Palma que me ha brindado entre otras cosas las facilidades necesarias en logística hasta la fecha.

Al Msc. Norman Soria Idrovo por la dirección brindada durante la realización de la presente investigación, también al Ing. Gabriel Larrea como revisor oponente del presente trabajo.

A la Msc. Elizabeth Urbano por la atención y el tiempo prestado en la realización de este trabajo.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, por brindarme los espacios adecuados tanto en laboratorio como en campo para el desarrollo de la fase experimental.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas, a sus autoridades, por contribuir en el perfeccionamiento del talento humano con los programas de cuarto nivel brindados a la sociedad.

ÍNDICE

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
PALABRAS CLAVE:	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN.....	xv
CAPÍTULO I.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1 Descripción del Problema.....	1
1.2 Preguntas de investigación	3
1.3. Justificación e importancia.....	3
1.4. OBJETIVOS.....	5
A. General	5
B. Específicos.....	5
CAPÍTULO II.....	7

MARCO TEÓRICO	7
2.1. Agricultura orgánica.....	7
2.2 Extractos vegetales	8
2.2.1 Importancia.....	8
2.2.2 Beneficios.....	9
2.2.3 Tipos por medio de disolvente	9
2.2.4 Extractos.....	10
2.2.5 Mecanismos de acción	10
2.3 Métodos de extracción de compuestos.....	11
2.3.1 Destilación por arrastre de vapor	11
2.3.2 Maceración	13
2.3.3 Percolación	13
2.3.4 Decocción.....	14
2.3.5 Infusión.....	14
2.4. Defensa natural de la planta	15
2.4.1 Muerte celular programada	15
2.4.2 Metabolitos secundarios.....	17
2.4.2.1 Fitoalexinas	18
2.4.3 Terpenoides	19
Fuente: Chao, 2016. Citado por: (INTAGRI, 2017)	20
2.5 Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)	20
2.6 Ácido Salicílico (AS)	23
2.6.1 Historia.....	23
2.6.2 Funcionalidad.....	24

2.6.3 Biosíntesis	24
2.6.4 Estudios bioquímicos	25
2.6.5 Estudios genéticos	25
2.6.6 Modo de acción	25
2.7 Sauce llorón (<i>Salix babylonica</i>)	26
2.8 Índice Plastocrónico IP.....	29
2.9 Injertos.....	30
2.9.1 Historia.....	31
2.9.1.1 El primer injerto	32
2.9.1.2 Griegos y romanos	32
2.9.1.3 Renacimiento.....	33
2.9.1.4 Injerto en la Ilustración	33
2.9.1.5 Injertos en el siglo XIX.....	33
2.9.1.6 Injertos modernos.....	33
2.9.2 Importancia de los injertos	34
2.9.3 Tipos de injertos	35
2.9.3.1 Por aproximación	35
2.9.3.2 De hendidura	36
2.9.3.3 De yema.....	37
2.9.4 Afinidad /compatibilidad.....	37
2.9.4.1 Métodos tradicionales en el estudio de la compatibilidad patrón-variedad	37
2.9.4.2 Aplicación de técnicas histológicas para el conocimiento del desarrollo del injerto....	38
2.9.4.3 Procesos bioquímicos asociados a la compatibilidad de injerto	38
2.10 Cítricos	39

2.10.1 Limón	40
2.10.2 Estacionalidad	40
2.10.3 Porción comestible	40
2.10.4 Fuente de nutrientes y sustancias no nutritivas	40
2.10.5 Valoración nutricional	40
2.10.6 Composición Nutricional del limón	41
CAPÍTULO III	42
METODOLOGÍA	42
3.1. Ubicación política y geográfica de la investigación.....	42
3.2. Factores de estudio	42
3.3. Descripción del experimento.....	44
3.4. Análisis estadístico	46
3.5. Variables Medidas.....	47
a) Estrés de tipo biótico y abiótico. –.....	47
b) Prendimiento de injertos	48
c) Tiempo de aclimatación.....	48
d) Porcentaje de crecimiento y desarrollo.....	48
CAPÍTULO IV	50
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
a) Estrés de tipo biótico y abiótico.....	50
b) Prendimiento de injertos.....	53
c) Tiempo de aclimatación	56
d) Porcentaje de crecimiento y desarrollo	58
CAPÍTULO V	62

CONCLUSIONES	62
CAPÍTULO VI	63
RECOMENDACIONES	63
CAPÍTULO VII	64
BIBLIOGRAFÍA	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Destilación por arrastre con vapor	12
Figura 2. Respuestas de defensa de las plantas locales y sistémicas.	15
Figura 3. Eventos donde actúan metabolitos secundarios en defensa natural de la planta.....	17
Figura 4. Expresión de la Resistencia Sistemática.....	22
Figura 5. <i>Salix babylonica</i>	27
Figura 6. Composición Nutricional Limón.	41
Figura 7. Formación de galerías por minador de la hoja.....	51
Figura 8. Cutículas afectadas y rotas por acción del minador de hoja.	52
Figura 9. Desarrollo de cámara pupal por minador de hoja.....	52
Figura 10. Porcentaje de prendimiento de injertos.....	53
Figura 11. Efecto del AS y DMSO en el diámetro del tallo... ..	58
Figura 12. Efecto del AS y DMSO en la altura de plantas.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mecanismos internos e inducidos de defensa de la planta.	19
Tabla 2. Clasificación taxonómica del sauce llorón (<i>Salix babylonica</i>).....	28
Tabla 3. Factor 1. Métodos de extracción.....	42
Tabla 4. Factor 2. Partes de la planta para extracción	43
Tabla 5. Factor 3. Forma de aplicación	43
Tabla 6. Tratamientos en estudio	43
Tabla 7. Descripción del experimento.....	44
Tabla 8. Distribución de tratamientos del experimento en vivero.	45
Tabla 9. Prueba en campo que determina dosis adecuada para investigación	46
Tabla 10. Esquema del análisis de varianza	47
Tabla 11. Análisis de varianza para daño por minador de hoja.....	50
Tabla 12. Análisis de varianza para Índice de Área Foliar.....	56
Tabla 13. Índice de Área Foliar por tratamientos evaluados	56
Tabla 14. Análisis de varianza para Índice Plastocrónico IP	59

Tabla 15. <i>Índice Plastocrónico y prueba Tukey en primera, segunda y tercera evaluación</i>	59
--	-----------

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad evaluar el crecimiento, desarrollo, respuesta a estrés biótico y la cantidad de injertos en cítricos exitosos mediante la aplicación de extractos del sauce llorón (*Salix babylonica*), obtenidos de tallos y hojas, mediante métodos de extracción de arrastre de vapor y maceración, en aplicación foliar (caulinar) y “drench”, en un vivero localizado en la parroquia La Concepción, cantón Mira, Carchi. Se utilizó un diseño completo al azar, con 10 tratamientos obtenidos de interacciones encontradas entre factores de estudio, 4 repeticiones, obteniendo 40 unidades experimentales, con 240 plantas en evaluación. Fueron utilizados el Índice Plastocrónico (IP), Índice de Área Foliar (IAF), como técnicas de medición de crecimiento y desarrollo, muestras visuales para medición de estrés y cantidad de injertos exitosos, utilizando prueba Tukey al 5% para contrastar resultados. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en daño por minador de hoja. A los 90 ddi en evaluación de crecimiento y desarrollo medido por IP se destaca el T1 con 13.71 como el mejor tratamiento seguido por T2 con 11.14 y T8 con 10.60, en relación al testigo con 9.09 de media respectivamente, además T1 presenta un 100% de prendimiento de injertos, en comparación al testigo que no logra alcanzar el 80%. A los 90 ddi se observa que T4 y T5 alcanzan los mejores resultados con 0.33 y 0.34 respectivamente, en contraste con el testigo que indica un IAF de 0.16, resultando en un mayor desarrollo de follaje.

PALABRAS CLAVE:

- **DÍAS DESPUÉS DEL INJERTO (ddi)**
- **DRENCH**
- **FOLIAR**
- **MACERACIÓN**
- **EXTRACTOS**

ABSTRACT

The purpose of the present investigation was to evaluate the growth, development, response to biotic stress and the quantity of successful in citrus plants, grafts by applying weeping willow (*Salix babylonica*) extracts, obtained from stems and leaves, with extraction methods of steam trawling and maceration, in foliar application (caulinar) and drench, in a field located in the parish of La Concepción, Mira, Carchi province. A complete random design was used, with 10 treatments obtained from interactions found between study factors, 4 repetitions, at the end obtaining 40 experimental units, with 240 plants under evaluation. The Plastochronic Index (PI), Foliar Area Index (LAI), were used as growth and development measurement techniques, visual samples for stress measurement and number of successful grafts, all processed in Infostat to assess significance with Tukey test 5%. No statistically significant differences were found in damage by leaf miner, at 90 ddi in evaluation of growth and development measured by PI it stands out to T1 with 13.71 as the best treatment followed by T2 with 11.14 and T8 with 10.60, in relation to control with 9.09 on average respectively, also T1 presents 100% successful grafts, compared to the control that fails to reach 80%. At 90 ddi it is observed that T4 and T5 reach the best results with 0.33 and 0.34 respectively, in contrast to the control that indicates LAI of 0.16, resulting in greater foliage development.

KEY WORDS:

- **DAYS AFTER GRAFTING (ddi)**
- **DRENCH**
- **FOLIAR**
- **MACERATION**
- **EXTRACTS**

INTRODUCCIÓN

En los albores del nuevo milenio, 2 570 millones de personas dependen de la agricultura, la caza, la pesca o la silvicultura para su subsistencia, incluidas las que se dedican activamente a esas tareas y sus familiares a cargo sin trabajo. Representan el 42 por ciento de la humanidad. La agricultura impulsa la economía de la mayoría de los países en desarrollo. Históricamente, muy pocos países han experimentado un rápido crecimiento económico y una reducción de la pobreza que no hayan estado precedidos o acompañados del crecimiento agrícola. La agricultura ha sido considerada solamente como una actividad económica, más allá de ser una forma de vida, patrimonio, identidad y pacto ancestral con la naturaleza. La mayoría de las culturas, especialmente aquéllas en las que la principal actividad es la agricultura, tienen profundas creencias religiosas, valores y rituales relacionados con los alimentos y el respeto por el medio ambiente (FAO, 2005).

En los últimos tiempos ésta ha sufrido severos cambios en lo que respecta a manejo, en la utilización excesiva de químicos para el control de plagas y enfermedades que afectan cultivos de interés económico, por lo que deducimos que actualmente se encuentra en crisis. A pesar de que en todo el mundo la producción es al menos igual que en el pasado, existen abundantes señales que muestran que las bases de su productividad están en peligro. La agricultura del futuro debe ser tanto sostenible como altamente productiva si se desea producir alimentos para una creciente población humana (Gliessman, 1998).

Según FAO (1991), el mundo está andando hacia una crisis alimentaria debido al rápido y constante aumento de la población en muchas zonas del mundo en desarrollo, particularmente en África, el Medio Oriente y partes de América Latina además de la disminución de la productividad agrícola en términos de productividad per cápita. El crecimiento demográfico, la urbanización, la

distribución desigual de las tierras, la reducción de las dimensiones de las explotaciones y el constante empobrecimiento de los agricultores del Tercer Mundo, han contribuido a reducir la producción tradicional en zonas críticas. Casi mil millones de personas padecen de malnutrición y 400 millones están crónicamente subnutridas. Paralelamente al crecimiento del número de seres humanos, ha ido avanzando la degradación de los recursos a escala masiva. En un momento en que se necesita producir más alimentos, la degradación de las tierras y el abuso de sustancias químicas comportan una mengua de la producción agrícola.

El reto actual más importante consiste en lograr el modo de aumentar la producción para satisfacer la creciente demanda de alimentos, piensos y bioenergía, además de buscar la rentabilidad conservando al mismo tiempo la biodiversidad y reduciendo la presión sobre los recursos naturales y los ecosistemas (FAO, 2016).

La utilización de sistemas alternativos de producción se vuelve importante, para permitir la obtención de alimentos de calidad libres de residuos químicos, que mantengan la fertilidad del suelo, haciendo uso de técnicas amigables con el ambiente y de pocos o escasos recursos económicos.

El empleo de la biotecnología puede reducir la necesidad de productos agroquímicos, identificando bacterias que sustituyan el efecto de los fertilizantes químicos y manipulando genéticamente las plantas para hacerlas más resistentes, reduciendo el consumo de plaguicidas y herbicidas. Además, se puede aumentar el contenido de nutrientes de las plantas y el rendimiento de los cultivos. Los países en desarrollo que adopten rápidamente la nueva tecnología se beneficiarán del incremento de la producción, la introducción de nuevos productos y el ahorro de recursos (FAO, 1991).

Los extractos vegetales han sido utilizados milenariamente por agricultores, teniendo importantes efectos positivos en el control de plagas y enfermedades y mejora en la productividad. Con la aparición de plaguicidas sintéticos, ha disminuido el uso de los antes mencionados dando paso al encarecido control y daño al medio ambiente. Por éstas y otras razones más en la última década se ha tomado énfasis en recuperar los saberes ancestrales y hacer uso de mecanismos de bajo impacto ambiental, económicos y funcionales, como lo son los extractos vegetales.

Los biorreguladores son compuestos capaces de estimular o inhibir un proceso fisiológico en las plantas, debido generalmente a la acción de fitohormonas u hormonas vegetales que regulan diversas funciones como germinación, crecimiento y desarrollo, que también actúan como mediadores químicos en eventos particularmente relacionados con el aprovechamiento de la luz por las plantas (Carreiras-Albo, 1998). Del tipo y cantidad de una fitohormona específica dependen los efectos producidos en cada evento, ejerciendo influencia además en procesos como la asimilación de nutrientes o el desarrollo del sistema radicular y vegetativo de una planta (Díaz-Montenegro, 2007).

La resistencia a las enfermedades de las plantas es a menudo específica y los metabolitos y receptores que contribuyen a esta especificidad pueden tener estructuras específicas. Sin embargo, compuestos sencillos, sin relación estructural, inducen resistencia sistémica en plantas no relacionadas a diversos patógenos incluyendo hongos, bacterias y virus (Kuč, 2001).

En la última década se ha experimentado un alza en la demanda de consumo de cítricos, ya sea en fresco o elaborado, lo que ha provocado un aumento en el cultivo de los mismos, haciendo de éstos un mercado potencial para la comercialización de productos agroquímicos y orgánicos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del Problema

La tragedia provocada por la agricultura industrial no sólo se mide por la contaminación generada por los agroquímicos que utiliza (fertilizantes, fungicidas, herbicidas, insecticidas), por la pérdida de ambientes naturales transformados por el avance del hombre en la búsqueda de industria, perdiendo fauna y flora propia de la zona, por la dilapidación de agua, suelos y energía, por la erosión de la diversidad genética a consecuencia del uso de unas cuantas variedades mejoradas, por el incremento del riesgo a causa de los organismos transgénicos, o por la generación de alimentos peligrosos e insanos; también se distingue por un impacto cultural de incalculables consecuencias: saberes ancestrales de por lo menos 10 000 años, perdidos a lo largo del tiempo de interacción humana con la naturaleza (Toledo, 2005).

La FAO prevé la necesidad mundial de producir 60 por ciento más de alimentos para el sustento de una población más numerosa en todo el planeta en 2050; la agricultura deberá seguir suministrando un 80 por ciento de los alimentos del mundo. Es de gran importancia reducir las pérdidas de alimentos causadas por las plagas de los cultivos, para cubrir las necesidades de alimentos del mundo (FAO, 2012).

Efectos negativos en la seguridad alimentaria y la nutrición en los países en desarrollo, son acciones que se generan con frecuencia. El crecimiento del comercio internacional de productos agrícolas amortigua los efectos potenciales de las plagas y enfermedades transfronterizas en la disponibilidad de alimentos, aunque pueden hacerse sentir mucho en las comunidades más pobres

que no tienen acceso a suministros de sustitución. Las autoridades de los países en desarrollo, no adoptan un compromiso real con la seguridad alimentaria de sus mandantes, siendo uno de los principales argumentos que se esgrimen en favor de la asistencia internacional a los programas de control (FAO, 2001).

Todos los años la producción agrícola mundial se reduce del 20 al 40 por ciento a causa de plagas y enfermedades, según estimaciones de la Secretaría de la CIPF (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria) con sede en la FAO. De acuerdo con la CIPF, las ventas mundiales de plaguicidas para combatir las plagas de las plantas ascienden en torno a los 45 mil millones de USD al año (FAO, 2012).

Entre algunos problemas inherentes a la producción agrícola está la falta de conocimiento en el uso de alternativas ecológicas para la obtención de extractos naturales. La poca preocupación por el cuidado del ambiente, resultantes en la contaminación de suelo y agua con residuos de plaguicidas. Problemas que se presentan en las plantas luego de realizar prácticas de injerto. Los costos incurridos en la adquisición de insumos químicos para el tratamiento de enfermedades, plagas, desarrollo y crecimiento de plantas. En el ámbito social, existen muchos casos de intoxicación ya sea al momento de aplicación o en el consumo de alimentos debido a los químicos, desencadenando enfermedades, alergias, traumas e inclusive alteraciones genéticas.

Para la presente investigación se plantean dos problemas. Primero el uso excesivo de químicos para la producción de plantas injertadas, ocasionando daños ambientales, acompañados de la no accesibilidad a éstos debido a los elevados costos que incurren en la adquisición de los mismos. Segundo el efecto post injerto que presentan las plantas; estrés biótico y abiótico, bajo prendimiento, deficiente crecimiento y desarrollo de las plantas injertadas, además de los largos periodos de tiempo hasta conseguir una planta ideal para siembra en campo definitivo.

1.2 Preguntas de investigación

- ¿Los extractos de sauce (*Salix babylonica*) funcionan como biorreguladores?
- ¿Cuál de los dos métodos de extracción (maceración o vapor) de compuestos del sauce (*Salix babylonica*) de hojas y tallos, ha mostrado mejores resultados en disminuir problemas de prendimiento, crecimiento y desarrollo en cítricos injertados?
- ¿Qué dosis de extracto se debe aplicar a las plantas?
- ¿Cuál método de aplicación (aspersión o drench) muestra mejor resultado?
- ¿Existe diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos evaluados en relación al testigo absoluto?

1.3. Justificación e importancia

El uso de plaguicidas ha aumentado de una manera continua desde los años 40, en promedio un 11% anual, alcanzando mundialmente cinco millones de toneladas en 1995. En países desarrollados se logra observar un cambio gradual en el uso de agroquímicos, prefiriendo métodos agrícolas biológicos; sin embargo, tratamientos químicos se siguen aplicando en forma intensiva en países tropicales. Expertos calculan que menos del 0.1 por ciento de la cantidad de plaguicidas aplicado llega a la plaga de interés, mientras que el restante circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente el suelo, agua y la biota; así, se vuelve obligatorio caracterizar el destino final y la toxicidad no prevista de estos plaguicidas para definir con certeza el riesgo asociado a su uso (Carvalho, Nhan, Zhong, Tavares, & Klaine, 1998).

El control químico ha sido el método principal para manejo de plagas y enfermedades de los cultivos. Han conducido a la búsqueda y desarrollo de alternativas ecológicas los problemas de contaminación ambiental, que han impactado negativamente en la biodiversidad de los

agroecosistemas, como de seguridad y salud pública, inherentes a la fabricación y uso inadecuado de los agroquímicos, (Zavaleta-Mejía, 1999).

El hombre desde el inicio de la práctica de agricultura se ha preocupado por aumentar y preservar las cosechas, dependiendo de éstas su subsistencia relacionadas a la cantidad y calidad de las mismas. A la constante lucha contra las plagas que amenazan los alimentos y otros productos agrícolas, se suma las preocupaciones por el control de los insectos y otros animales, vectores de enfermedades transmisibles. Ambas han adquirido características especiales con el formidable progreso de la industria química en el siglo XX. Este progreso ha suministrado una gran cantidad de sustancias químicas de alta agresividad contra los organismos dañinos pero cuyos efectos sobre el hombre y equilibrio del ecosistema continúan siendo debatidos (Ferrer, 2003).

Con el auge sin precedentes del comercio mundial de productos agrícolas, las plagas y enfermedades de las plantas siguen representando un desafío importante para la producción de alimentos y la seguridad alimentaria (FAO, 2012).

Sin embargo, el uso desmedido de químicos ha tornado una agricultura consumista y poco interesada en los daños colaterales que se generan a la par de la producción, conllevando cambios climatológicos que afectan el normal desarrollo de los cultivos y daños en la salud humana.

El impacto del cambio climático en la seguridad alimentaria mundial se notará no solo en el suministro de alimentos, sino también en la calidad, el acceso y la utilización de los mismos y en la estabilidad de la seguridad alimentaria. La utilización de prácticas amigables con el ambiente, el cuidado y protección de la tierra, el agua, la pesca y la silvicultura por parte de los pequeños productores será fundamental para avanzar en los esfuerzos de adaptación ante el cambio climático, la erradicación de la pobreza global y la erradicación del hambre. Además, se precisarán también

mejoras en las infraestructuras, los servicios de extensión, la información climática, el acceso al crédito y la protección social para alentar la adopción de estas prácticas (FAO, 2017).

Con los avances presentados por la biotecnología y la adopción de prácticas sostenibles, se puede lograr la reducción de la compra de insumos externos. Los extractos vegetales muestran un alto potencial para lograr el cambio de prácticas culturales, que disminuyan los impactos de los insumos químicos cuando se deban usar y permitan establecer bases para diseñar sistemas que ayuden a los agricultores a mantener sus granjas y comunidades (Gliessman, 1998).

La presente investigación se justifica en el fin de encontrar métodos alternativos de producción agrícola, que minimicen el daño ambiental, mejoren la economía de quienes los utilicen, y logren solucionar los inconvenientes que se presentan al momento de realizar la práctica de injerto. El proyecto contempla la manera de buscar una tecnología que pueda ser utilizada por cualquier persona, económica, fácil de preparar, tóxicamente segura, sostenible y que mejore el desarrollo y crecimiento de las plantas.

1.4. OBJETIVOS

A. General

- Desarrollar un extracto natural a base del sauce (*Salix babylonica*) que disminuya los problemas de estrés presentados en los injertos de cítricos y mejore el prendimiento, crecimiento y desarrollo de los mismos, de manera sostenible, económica y segura.

B. Específicos

- Evaluar el método más conveniente de extracción.
- Determinar la dosis adecuada para la aplicación en plantas.

- Determinar cuál de las dos técnicas de aplicación (aspersión al tallo o drench) obtiene el mejor resultado.
- Difundir los resultados en un día de campo con agricultores y viveristas de la zona de influencia donde se desarrolló la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Agricultura orgánica

Sistema de producción donde el reciclaje de recursos de la finca es la prioridad, dándole énfasis a la fertilidad del suelo y la actividad biológica del mismo, además minimizar el uso de los recursos no renovables y el no uso de fertilizantes y plaguicidas sintéticos que contaminan, para proteger el medio ambiente y la salud humana. La agricultura orgánica involucra mucho más que no usar agroquímicos. (FAO, 2003)

Se orienta más a los procesos que a los productos, implica restricciones significativas que elevan los costos de producción y comercialización en la mayoría de los casos, aporta beneficios a la salud, seguridad de no encontrar residuos tóxicos en los alimentos y minimizar el daño ambiental. Prohíbe el uso de organismos genéticamente modificados (OGM's), productos sanitarios sintéticos, estimulantes y hormonas (FAO, 2003).

La agricultura sostenible es un término genérico que supone tanto una filosofía, valores y concepción del mundo en la relación sociedad naturaleza, como una de las prácticas y sistemas agrícolas. De manera holística, la sostenibilidad compone aspectos ecológicos, económicos y culturales en cuyo examen se deben emplear las herramientas conceptuales y los aportes derivados de la investigación en las ciencias agronómicas y sociales (Suquilanda, 1996).

Según (Cussianovich, 2001) la agricultura orgánica, la agricultura biodinámica, la permacultura, la tecnología apropiada y la agroecología, para citar algunas, nacen de la toma de conciencia, por parte de la sociedad, sobre los riesgos generados en la salud humana y en el medio

ambiente como consecuencia del uso excesivo de agroquímicos sintéticos y el inadecuado manejo de los recursos naturales, conduciendo así a la búsqueda de tecnologías de producción alternativas que contrarrestaran estos efectos, dejando espacio al surgimiento de diversas corrientes.

Además de los atributos señalados, que indiscutiblemente aportan al mejoramiento de la calidad de vida en el medio rural y de la sociedad en su conjunto, la práctica de la agricultura orgánica conlleva una de las contribuciones más significativas e importantes al desarrollo del sector agropecuario, al propiciar día con día la revalorización del principal y tal vez único patrimonio con que cuentan los productores: la tierra (Cussianovich, 2001).

En este sentido, es de gran importancia la valorización de los productos orgánicos puesto que marcan la diferencia en el modo de hacer agricultura, siempre de la mano de prácticas conservacionistas amigables con el medio ambiente, como es la utilización de extractos vegetales para el control de plagas, enfermedades y aumento de productividad.

2.2 Extractos vegetales

2.2.1 Importancia

Los productos químicos han sido la principal estrategia para reducir las enfermedades y plagas en plantas durante más de seis décadas. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha provocado dos grandes problemas: el incremento de residuos químicos potencialmente tóxicos al humano y la proliferación de fitopatógenos resistentes. Los problemas anteriormente citados y al aumento en el costo de los productos químicos, provocan una tendencia global a reducir su uso. Esto ha intensificado la búsqueda de alternativas de origen natural que sean económicas, efectivas y menos dañinas al ambiente y a la salud humana, de manera que se han

reportado estudios que demuestran los efectos antifúngicos, antibacteriales, nematocidas e insecticidas de extractos de diversas plantas (Quintana, 2009).

Un extracto es una disolución de los principios activos de una planta en un determinado medio que actúa como disolvente. Todos los extractos poseen según su naturaleza un mínimo de principios activos, encargados de aportar propiedades. Éstos refuerzan la fortaleza de la planta o repelen o suprimen al patógeno. Su eficacia depende de varios factores, no todos ellos controlados totalmente; por esto es que los resultados pueden ser variables, en función del estado del cultivo, las condiciones de extracción, la calidad de la planta de la cual se extrae la sustancia, etc. Muchas pueden favorecer los mecanismos de defensa de las plantas, reforzando la pared celular, o con sustancias inhibitoras de los patógenos, sobre todo en condiciones de estrés (sequía, falta de nutrientes, ataques fuertes de insectos, etc.) (Roselló, s.f).

2.2.2 Beneficios

Los extractos vegetales presentan ventajas ante los químicos debido a: ser conocidos y preparados por los propios agricultores, disminuyendo la dependencia de los técnicos y las empresas comercializadores de agroquímicos. Las partes vegetales son de fácil y económico acceso al estar presentes en las comunidades, no generan presión al medio ambiente pues no han sufrido alteraciones químicas, se fabrican con materiales biodegradables y de baja o nula toxicidad. El periodo de reingreso al cultivo se vuelve corto, pues al ser orgánico no presenta afección a la salud humana. El desarrollo de resistencia se vuelve menor en comparación con químicos.

2.2.3 Tipos por medio de disolvente

Las principales diferencias entre extractos resultan por el medio en el cual están disueltos.

- Extractos oleosos. – usan el aceite vegetal
- Extractos glicólicos. - emplean el propilenglicol o la glicerina líquida
- Extractos hidroalcohólicos o tinturas. - emplean el alcohol etílico de acuerdo el activo a extraer en diferentes graduaciones.

2.2.4 Extractos

- Fluidos. - son preparaciones líquidas en relación 1:1
- Secos. - realizados mediante evaporación, teniendo un contenido de agua no mayor al 5%, en relación 2:1
- Blandos. - son preparaciones semisólidas logradas por evaporación total o parcial.
- Crioextractos. – utilizados para extracción de compuestos termolábiles, luego de ser congelados se someten a la acción del nitrógeno líquido y luego etanol.

2.2.5 Mecanismos de acción

- Actividad antifúngica. – actúan sobre las rutas metabólicas específicas que les confieren a los patógenos su resistencia a factores adversos. En hongos como *Aspergillus* o *Rhizopus*, un terpenoide afecta la ruta de generación de melanina, misma que deforma sus esporas e impide su desarrollo.
- Actividad bactericida o bacteriostática. – mediante sustancias aleloquímicas dañan la pared celular de las bacterias dejándolas sin protección.
- Actividad larvicida. - provocan repelencia, inanición y finalmente la muerte de las larvas, como los metabolitos secundarios de las Meliáceas (Neem). Algunos ácidos grasos son tóxicos para larvas de diversos insectos plaga.

- Actividad nematocida. - la azadiractina es tóxica para ciertos grupos de nemátodos, causándoles daño en diferentes estadios de su desarrollo.
- Actividad alelobiótica. - son estimuladores del desarrollo vegetal exógeno no nutritivo que inciden en el crecimiento, desarrollo y composición de las plantas.

2.3 Métodos de extracción de compuestos

Dependiente de algunos factores, entre ellos: la técnica de preparación de material orgánico, estructura química de los compuestos fenólicos, temperatura, tiempo de extracción, relación sólido-líquido, método de extracción empleado, posible presencia de sustancias de interferencia y sistema solvente elegido, en éste último debe tomarse en cuenta polaridad / solubilidad de los constituyentes, seguridad (no inflamable o formador de peróxidos explosivos), facilidad de trabajo, potencial y pureza (Jones & Kinghorn, 2005).

Los métodos por arrastre de vapor o maceración son sencillos y económicos, además se puede mencionar entre los más comunes la extracción con equipo Soxhlet, extracción asistida por ultrasonido o extracción asistida por microondas (Guntero *et al.*, 2015).

2.3.1 Destilación por arrastre de vapor

Se usa cuando los compuestos de interés son volátiles, pues permite separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles, como resinas, sales inorgánicas, u otros compuestos orgánicos (Richter, 1980). Este método es una "alternativa verde" a los métodos de extracción convencionales, debido a que usa un solvente no tóxico, y genera pocos compuestos contaminantes como CO₂, sin perder calidad en los productos extraídos (Jones & Kinghorn, 2005).

El procedimiento incluye los siguientes pasos (Arango *et al.*, 2009):

1. Construcción del equipo: Se requieren dos matraces, uno con agua destilada y otro con la muestra orgánica (Ilustración 1). Se genera vapor calentando el matraz con el solvente líquido.
2. Arrastre: por acción del vapor se extraen los aceites esenciales de la muestra, que son arrastrados por el vapor de agua en un proceso de codestilación.
3. Extracción: de este destilado se extrae totalmente el aceite esencial, separando la mayor parte de la fracción acuosa, agregando al aceite sobrenadante (unas cuantas gotas) 5 mL. de acetato de etilo para facilitar su separación.
4. Destilación: debe agregarse la cantidad necesaria de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente, filtrar o decantar el extracto seco y comprobar el grado de pureza del aceite obtenido.

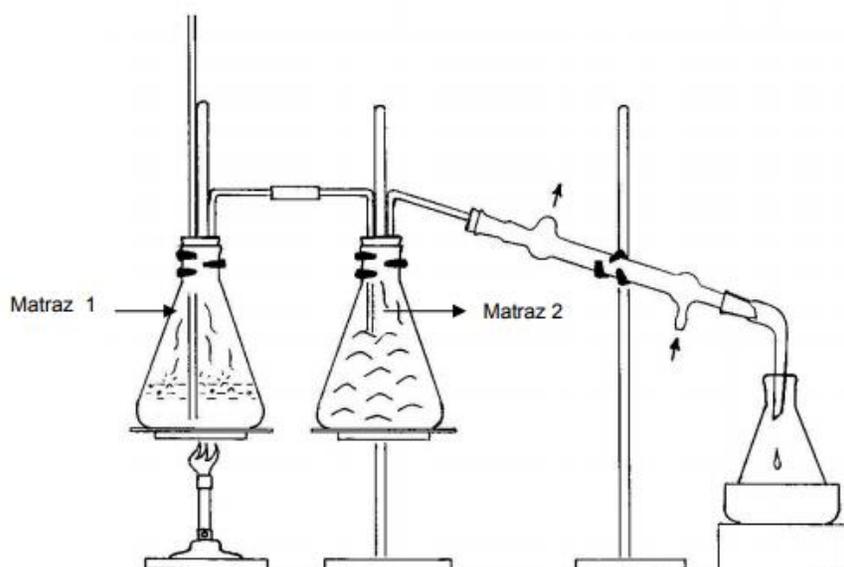


Figura 1. Destilación por arrastre con vapor

2.3.2 Maceración

Constituye el proceso de extracción de compuestos bioactivos en diferentes estados físicos de sólido-líquido. Los compuestos de interés se encuentran en estado sólido, pero por su solubilidad se facilita la extracción con un solvente líquido. El proceso puede desarrollarse en frascos, matraces de Erlenmeyer, o en contenedores más grandes, de acuerdo al tamaño de la muestra (Enríquez *et al.*, 2002).

El procedimiento involucra los siguientes pasos (Jones & Kinghorn, 2005):

1. Carga de material vegetal: previo humedecimiento del material de la planta con el solvente, cubriendo toda la muestra.
2. Extracción: para evitar la pérdida de solvente el contenedor debe estar cubierto, y con cada adición de solvente nuevo el material vegetal debe dejarse macerar durante la noche.
3. Decantación: a través de una pantalla o filtro, además se agrega solvente fresco eliminando el solvente saturado.
4. Métodos para acelerar el proceso de extracción: se puede realizar sonicación de la muestra o agitación suave en una mesa de caldo de fermentación, reduciendo así el tiempo necesario para una extracción completa.

2.3.3 Percolación

Consiste en realizar el paso del líquido por el percolador sometiendo a una ligera presión a los materiales contenidos en el mismo. Existe una regulación al final del percolador para permitir el paso según conveniencia. El material para la extracción pasa por previo humedecimiento, luego

se empaqueta y se programa de tal forma de conseguir un goteo uniforme. Se deja en maceración con el percolador cerrado durante 24 horas.

Pasado este tiempo se deja gotear lentamente y se adiciona suficiente solvente hasta un volumen proporcional a las 3/4 partes del volumen total requerido para el producto final. Se presiona la masa húmeda residual para extraer el máximo del líquido retenido y se completa con suficiente líquido hasta obtener la proporción adecuada, se filtra o se clarifica por decantación (Farmacognosia, s,f).

2.3.4 Decocción

Es usada para la obtención de principios activos que no sufran alteraciones con la temperatura. En este procedimiento se hierve el material de interés en agua por 15 a 60 minutos (según la planta o el principio activo a extraer), luego se enfría, se tamiza y se añade suficiente agua fría a través de la muestra hasta obtener el volumen deseado. Al final se realiza un filtrado para separar las impurezas del extracto obtenido. Se estima una vida anaquel de 24 horas del extracto, tiempo después del cual el mismo no tendrá la misma composición físico – química (Farmacognosia, s,f)

2.3.5 Infusión

Es empleada para la extracción de principios activos de partes delicadas de la planta como son flores, yemas u hojas. No se logra obtener toda la parte de los principios, debido que no se expone a grandes temperaturas. Consiste en colocar agua hirviendo sobre la muestra de interés y tapar para conseguir que el vapor suba y luego se decante por la acción del frío, por lo que puede

implicar ser un método lento. Se recomienda utilizar dosis de un gramo de planta (muestra) por cada 10 cc de agua (Farmacognosia, s,f).

2.4. Defensa natural de la planta

Varios mecanismos bioquímicos y fisiológicos han sido desarrollados por las plantas para responder y adaptarse ante un estrés determinado y así adquirir tolerancia al mismo. Para hacer frente a esto las plantas presentan defensas preexistentes e inducidas (Gatehouse, 2002).

Mecanismos constitutivos e inducidos, donde los primeros son preformados antes del ataque del patógeno, mientras los segundos se desarrollan ante el ataque de un patógeno, además de ser estructurales o químicas.

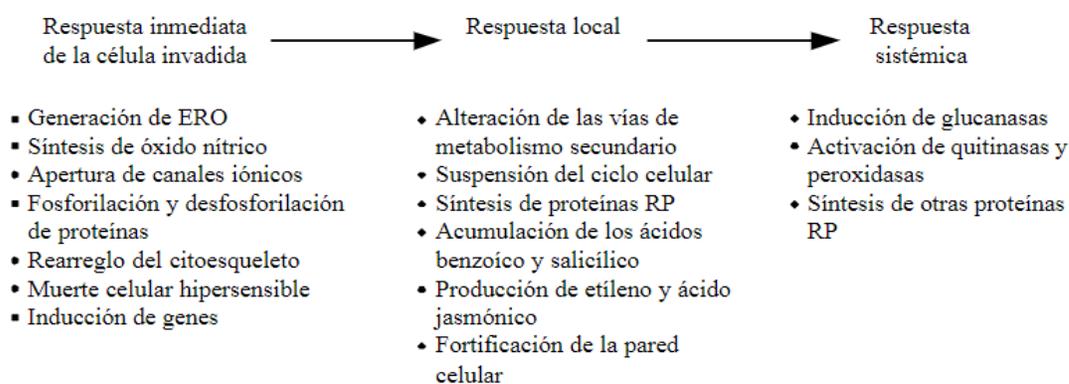


Figura 2. Respuestas de defensa de las plantas locales y sistémicas.

Fuente: (Sepúlveda-Jimenez, Porta-Ducoing, & Rocha-Sosa, 2003)

2.4.1 Muerte celular programada

La muerte celular controlada es la respuesta defensiva inducible más temprana ante la invasión de tejidos vegetales por un microorganismo foráneo. Esta “respuesta hipersensible” ocurre en aproximadamente 24 horas después que la planta percibe un patógeno potencial. Es un

fenómeno conocido desde hace varios decenios. Comparte características generales con la apoptosis, o muerte celular programada. El objetivo de esta apoptosis en la zona en la que se ha detectado la penetración de un microorganismo patogénico es el de aislar al invasor (Vivanco, Cosío, Loyola-Vargas, & Flores, 2005).

La visión actual del sistema inmune de la planta o la defensa natural se explica así; En la fase 1, los PAMP (patrón molecular asociado a patógenos) son reconocidos por PRR (receptores de reconocimiento de patrón), lo que resulta en inmunidad activada por PAMP (PTI) (PAMP inmunidad desencadenada), que puede detener la colonización adicional. En la fase 2, los patógenos exitosos despliegan efectores que contribuyen a la virulencia de los patógenos. Los efectores pueden interferir con PTI. Esto resulta en susceptibilidad desencadenada por efector (ETS). En la fase 3, un efector dado es “específicamente reconocido” por una de las proteínas NB-LRR, lo que resulta en inmunidad desencadenada por efectores (ETI). El reconocimiento es indirecto o mediante el reconocimiento directo de NB-LRR (dominios de nucleótidos-repetición rica en leucina) de un efector. La ETI es una respuesta de PTI acelerada y amplificada, que da como resultado resistencia a la enfermedad y, por lo general, una respuesta de muerte celular (HR) hipersensible en el sitio de la infección. En la fase 4, la selección natural impulsa a los patógenos para evitar la ETI (inmunidad desencadenada por efectores) ya sea mediante la eliminación o diversificación del gen efector reconocido, o mediante la adquisición de efectores adicionales que suprimen la ETI. La selección natural da como resultado nuevas especificidades R para que la ETI se pueda activar de nuevo (Jones & Dangl, 2006).

2.4.2 Metabolitos secundarios

Existe un extenso repertorio de “metabolitos secundarios”, presentes en concentraciones variables, en todos los tejidos vegetales adultos, cuya función primordial parece ser la defensa contra invasiones microbianas. A diferencia de las fitoalexinas, estos compuestos se caracterizan por su estado permanente. Tienen por misión servir de barrera inicial a la propagación de bacterias u hongos dentro de los tejidos de la planta. Pueden ejercer una presión selectiva sobre los patógenos potenciales; con el tiempo desarrollan por mutación, mecanismos de resistencia y perpetúan así el ciclo de cambio por mutación en patógeno y hospedador. A ese fenómeno se debe la enorme diversidad química de los productos naturales derivados de plantas (Vivanco, Cosio, Loyola-Vargas, & Flores, 2005).

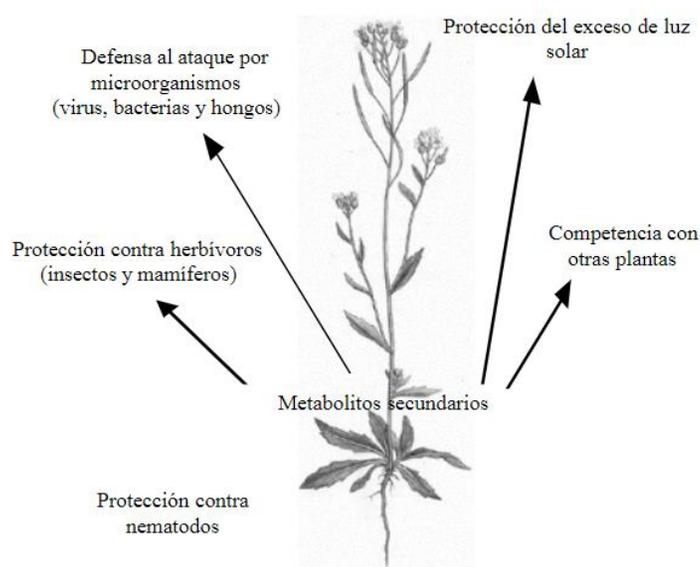


Figura 3. Eventos donde actúan metabolitos secundarios en defensa natural de la planta. Fuente: (Sepúlveda-Jimenez, Porta-Ducoing, & Rocha-Sosa, 2003)

Metabolitos secundarios son conocidos además como compuestos de bajo peso molecular, mismos que son secretados debido al daño ocasionado por heridas y ataque de microorganismos. Durante la respuesta hipersensible, algunos compuestos pertenecientes a los grupos de los alcaloides, los terpenoides y los fenilpropanoides, participan activamente matando directamente al microorganismo patógeno o restringiendo su invasión al resto de la planta, otros contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal, que se sintetizan durante las etapas tempranas de la respuesta de defensa. Los conjugados de fenilpropanoides con aminas se incorporan a la pared celular vegetal para aumentar su rigidez y reducir su digestibilidad por insectos y vertebrados herbívoros. Algunos alcaloides son neurotóxicos a insectos y vertebrados herbívoros (Sepúlveda-Jimenez, Porta-Ducoing, & Rocha-Sosa, 2003).

2.4.2.1 Fitoalexinas

Sintetizadas en el metabolismo secundario de la planta, fueron descritas desde hace más de 70 años. Poseen propiedades antimicrobianas ante un amplio espectro de hongos y bacterias patógenas. Son sintetizadas de manera endógena y pueden o no ser sintetizadas en bajas concentraciones cuando la planta está sana, aunque la acumulación en grandes concentraciones se genera por daños mecánicos o exposición a patógenos. Algunos investigadores sugieren que son producto del estrés térmico y lumínico, así como por la aplicación de fungicidas, haciendo un control al alcanzar la concentración suficiente para inhibir el desarrollo del patógeno (INTAGRI, 2017).

En respuesta a una infección y a diferentes tipos de inductores se genera el control de la síntesis de fitoalexinas que comprende el proceso regulatorio de su producción. Se ha observado

que la inducción de la síntesis y acumulación, se encuentra asociada con un incremento de los niveles de actividad de las enzimas involucradas en las rutas biosintéticas y juegan un papel importante en su regulación. Otro mecanismo de control es la inhibición del producto sintetizado, la especificidad de las enzimas involucradas, compartimentación celular y subcelular de enzimas y sustratos y la presencia de productos del metabolismo del huésped (García & Pérez, 2003).

2.4.3 Terpenoides

Son a menudo llamados isoprenoides teniendo en cuenta que el isopreno es su precursor biológico. Presentan una gran variedad estructural, derivan de la fusión repetitiva de unidades ramificadas de cinco carbonos basadas en la estructura del isopentenilo, son monómeros considerados como unidades isoprenílicas y se clasifican por el número de unidades de cinco carbonos que contienen en mono, sesqui, di, tri, tetraterpenos. Los productos que provienen del metabolismo del isopreno abarcan a los terpenos, los carotenos, las vitaminas, los esteroides, etc. (Universidad de Granada, 2002).

Tabla 1.

Mecanismos internos e inducidos de defensa de la planta.

Mecanismos internos de defensa de la planta	
Barreras en la superficie	Se encuentran; la cutina, suberina y las ceras.
Barreras internas	Se encuentra; el súber o corcho, tejidos absorbentes y tejidos mecánicos
Metabolitos secundarios	Se encuentran; compuestos que contienen Nitrógeno (alcaloides), Terpenos (piretrinas y aceites esenciales), Compuestos fenólicos (alelopatías-neem), Flavonoides (pigmentación y defensa), bioflavonoides (fitoalexinas).

CONTINÚA

Mecanismos de defensa inducida en la planta

Resistencia de gen a gen Mejoramiento genético

Resistencia hipersensitiva Sistema inmunitario innato (resistencia natural, bloqueo de células, muerte celular programada)

Resistencia sistémica adquirida (RSA) Inmune por ataques anteriores (ruta- ácido salicílico)

Resistencia sistémica inducida (RSI) Inmune por ataques anteriores (ruta-ácido jasmónico y etileno).

Resistencia inducida por mordeduras Mecanismo de sellado – sistémica hormonal (ácido jasmónico)

Resistencia inducida por elicitores (inductores) Agroquímicos con función específica – fosfito, quitosano, azúcares, proteínas, jasmonato, etileno (formación de fitoalexinas).

Resistencia inducida por químicos Reducción de estrés, expresión del potencial genético, aporte a procesos fisiológicos específicos (aminoácidos, biorreguladores, microelementos).

Fuente: Chao, 2016. Citado por: (INTAGRI, 2017)

2.5 Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)

Las plantas hospederas pueden protegerse contra el ataque de patógenos si han sobrevivido a una infección inicial por virus, bacterias u hongos patogénicos. Se piensa que la primera infección, o algún daño, “inmuniza” a la planta contra infecciones posteriores por patógenos homólogos. La primera expresión de resistencia “inducida” por el patógeno es la reacción contra subsecuentes infecciones de patógenos, independientemente si son virus, bacterias u hongos. Esta respuesta es llamada resistencia sistémica adquirida. La resistencia sistémica adquirida se refiere a distintas vías de transducción de señales que juegan un rol importante en la habilidad de la planta para defenderse contra los patógenos (Camarena-Gutierrez & de la Torre-Almaráz, 2007).

El análisis genético de mutantes de plantas con problemas para montar una respuesta de resistencia a patógenos invasores ha descubierto una serie de redes de señalización diferentes, pero interconectadas, que están bajo control positivo y negativo. Estas vías operan, al menos parcialmente, a través de la acción de pequeñas moléculas de señalización como salicilato, jasmonato y etileno. La interacción de las señales probablemente le permite a la planta ajustar las respuestas de defensa tanto en el tejido local como sistémico (Feys & Parker, 2000).

En las células más distantes o sea las partes no infectadas de la planta, las primeras reacciones de defensa tipo RSA son la síntesis de proteínas relacionadas a la patogénesis llamada proteínas PR, las enzimas β -1,3glucanasas, endohidrolasas, quitinasas, inhibidores de enzimas como la taumantina, inhibidores de amilasa y proteinasas. Los genes que son inducidos en las infecciones primarias por el patógeno, se expresan localmente y también sistémicamente en la planta por lo que son llamados genes RSA. Otros genes que también gobiernan las reacciones de defensa no son expresados sistémicamente (Shah & Klessig, 1996).

Moffat (1992), presenta dos características de RSA, siendo: (1) es efectiva contra un amplio espectro de diferentes patógenos y (2) es a largo plazo. Menciona además que el espectro de patógenos puede variar dependiendo de la planta tratada.

Camarena-Gutierrez & de la Torre-Almaráz (2007), sugieren que la fuerza y estabilidad de la resistencia inducida durante varias semanas pueden ser influenciadas por factores como las condiciones climáticas y la nutrición. La observación de que RSA se dispersa en la planta principalmente en dirección apical y se mueve hacia yemas injertadas, nos indica que las señales que establecen RSA son traslocadas a través de la planta.

Feys & Parker (2000), mencionan que el gen NPR1 Arabidopsis es requerido para la inducción por AS en la expresión de genes de resistencia y el establecimiento de la SAR. La RSI

es la respuesta de la planta a tipos de agentes patogénicos y no patogénicos al presentarse una infección, pero la ISR es independiente de AS y depende de la producción de reguladores de crecimiento como el ácido jasmónico y etileno, pero al igual que la SAR requiere del gen NPR1 para inducir la resistencia.

En el siguiente esquema se explica los mecanismos que activan la RSA en la planta:

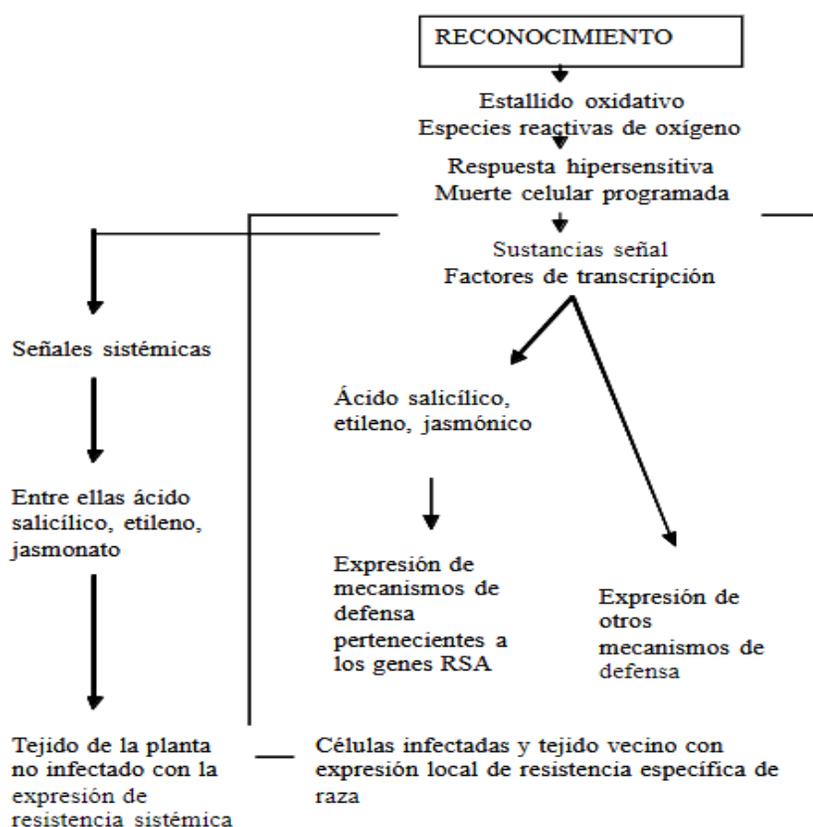


Figura 4. Expresión de la Resistencia Sistemática.

Fuente: (Camarena-Gutierrez & de la Torre-Almaráz, 2007)

2.6 Ácido Salicílico (AS)

2.6.1 Historia

Muchos de los medicamentos usados actualmente tienen su origen en fuentes naturales; codeína, morfina, opiáceos o aspirina, este último derivado sintético del ácido salicílico, los cuales han sido obtenidos de plantas, consideradas como una fábrica, aún por explorar, de compuestos activos con funcionalidades de interés en innumerables áreas (Wildermuth, Dewdney, Wu, & Ausubel, 2001).

La aspirina ha tenido algunas aplicaciones desde su desarrollo, reduce el riesgo de ataques cardiacos o cáncer, alivia el dolor o la inflamación o tiene uso profiláctico. Sin embargo, mucho antes del lanzamiento de los salicilatos o derivados del AS, se usaban las plantas identificadas como fuente de este compuesto mediante conocimiento ancestral. En el siglo IV a.C. Hipócrates sugirió a las mujeres de su época a masticar hojas de sauce para mitigar el dolor del parto, estableciendo un precedente para posteriores usos terapéuticos en varias regiones del mundo (Vlot, Dempsey, & Klessig, 2009).

En Estados Unidos el explante más usado medicinalmente para aliviar el dolor, era la corteza del sauce, de la cual no se iniciaron investigaciones con ensayos clínicos sino hasta mediados del siglo XVIII por el reverendo Edward Piedra en Inglaterra (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011). Posteriormente el científico alemán, Johann A. Buchner en 1828, logró aislar y purificar una sustancia opaca amarillenta a partir del sauce, a la cual denominó salicina. Diez años después un químico italiano, determinó la composición de la salicina como un azúcar y un ácido al que nombró ácido salicílico (Vlot, Dempsey, & Klessig, 2009).

2.6.2 Funcionalidad

El papel más reconocido del AS en las plantas se da como una molécula de señal en respuesta a condiciones inadecuadas para su desarrollo y subsistencia (tensiones abióticas, sales, condiciones oxidativas), como parte de un mecanismo de defensa. Sin embargo, existen muchos otros objetivos en la producción de este activo (Chen, Zheng, Huang, Lai, & Fan, 2009).

En algunas plantas termogénicas como voodoo lilies (lengua del diablo), el AS se produce como un desencadenante natural de calor para activar una respiración alternativa que permite la volatilización de compuestos con un olor específico capaz de atraer insectos polinizadores. Además, la aplicación exógena de este ácido activa la expresión de genes que intervienen en la resistencia a patologías vegetales (Catinot, Buchala, Abou-Mansour, & Métraux, 2008).

Interviene en la respuesta de resistencia adquirida sistémica (SAR), donde el ataque patógeno en las hojas más viejas de una planta causa el desarrollo de resistencia en las hojas más jóvenes, de modo que se activa una señal bioquímica específica y localizada. También se determina que este ácido mejora la longevidad de las flores, inhibe la biosíntesis de etileno y la germinación de semillas, bloquea la respuesta de la herida, y revierte los efectos del ácido abscísico (ABA) (Davies, 2010).

2.6.3 Biosíntesis

Aunque el método de biosíntesis del AS aún no está totalmente definido, algunos estudios bioquímicos sugieren que la vía metabólica se origina en el aminoácido fenilalanina con benzoato como precursor inmediato. Mientras que análisis genéticos sugieren que el volumen (> 90%) de

AS es sintetizado a partir del isocorisoma, aunque, las enzimas específicas influyentes no se han identificado.

2.6.4 Estudios bioquímicos

Asumen que el AS es biosintetizado a partir de cinnamato mediante la acción de la enzima fenilalanina amoníaco liasa (PAL), que se activa bajo condiciones de estrés biótico y abiótico. La síntesis puede conducirse mediante vía metabólica de o-cumarato o de benzoato, a través de una β -oxidación y una hidroxilación del anillo aromático antes o después del acortamiento de la cadena de reacciones (Chen, Zheng, Huang, Lai, & Fan, 2009).

2.6.5 Estudios genéticos

En bacterias capaces de producir AS, se ha establecido que el AS se sintetiza a partir de corismato mediante la catálisis por enzima isochorismato sintasa (ICS). Casualmente algunas plantas como Arabidopsis presentan genes ICS tanto en forma silvestre como en especímenes mutados con radiación UV, confirmando en cierto modo esta vía metabólica además de la mayor producción de AS identificada luego de someter al material biológico a condiciones de estrés (Vlot, Dempsey, & Klessig, 2009; Chen, Zheng, Huang, Lai, & Fan, 2009).

2.6.6 Modo de acción

Las plantas tienen una capacidad sorprendente para detectar condiciones de estrés del ambiente, como la infección por patógenos (estrés biótico), la polución, y cambios drásticos en la disponibilidad de luz, temperatura, agua, minerales o nutrientes (estrés abiótico) y desarrollar una respuesta de defensa. Estas respuestas permiten a la planta no solo sobrevivir al estrés, sino también adquirir un estado prolongado de resistencia o tolerancia a esta condición. A nivel molecular, las

respuestas de defensa se caracterizan por la activación concertada y secuencial de genes que codifican para proteínas que cumplen un papel en la reacción de defensa. El ácido salicílico, hormona fenólica producida en plantas sometidas a estrés, ha sido reconocido como una de las señales claves que gatilla la activación de genes de defensa (Loreto M. , s.f.)

El ácido salicílico es una importante molécula de señalización que interviene tanto en las respuestas de resistencia a las enfermedades inducidas local como sistemáticamente. La conversación cruzada entre las vías dependientes e independientes del ácido salicílico proporciona un gran potencial regulador para activar múltiples mecanismos de resistencia en combinaciones variables (Pieterse & van Loon, 1999).

Tiene sus orígenes en el uso de diversos productos de plantas que contienen salicilatos. Hay varios tipos de salicilinas, alcohol salicílico y metil salicilato en las hojas, corteza y frutos de muchos árboles y plantas. Sólo en la familia de las salicáceas se encuentran más de 200 especies, entre ellas, chopos y sauces que contienen glucósidos, y entre éstos la salicilina (Sandoval & Lomba, 2007).

2.7 Sauce llorón (*Salix babylonica*)

Es un árbol caducifolio nativo de Asia, perteneciente a la familia de las Salicáceas, cuyo tamaño puede superar los 12 m. de altura (se han observado especímenes de hasta 26 m). Tiene hojas alternas, lanceoladas y de borde aserrado, sus flores de color amarillo pálido y naturaleza dioica, y su tronco recto y grueso, con una copa muy espesa (Barrientos & Moreno, 2008).

Su cultivo puede extenderse en cualquier clase de terreno, aunque prefiere los suelos húmedos. Su multiplicación es principalmente por esquejes, soporta bien el frío y crece

vigorosamente con rapidez, requiriendo grandes cantidades de agua. En la tabla a continuación, se expresa la clasificación taxonómica correspondiente (Sánchez & Peralta, 2013).



Figura 5. Salix babylonica

Tabla 2.*Clasificación taxonómica del sauce llorón (Salix babylonica)*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Malpighiales
Familia:	Salicaceae
Género:	<i>Salix</i>
Especie:	<i>Salix babylonica</i>

Los compuestos tipo metabolitos secundarios que la planta produce han sido poco estudiados, pero se han identificado algunos incluyendo citoquininas, las cuales se conjugan formando glucósidos y son distribuidas por todas las partes de la planta, influyendo en la división celular, elongación meristemática y morfogénesis, y evitando la senescencia (Staden, 1976).

Entre los compuestos principales y mayoritarios del sauce se encuentran el salicilato (Ruuholta & Julkunen-Tiitto, 2000), éster bencílico natural del ácido gentísico 2'-Oetil-β-D-glucósido, tricocarpin, salicina, kaempferol-7-O-glucósido, apigenina-7-O-galactósido, luteolina-4'-O-glucósido y un éster de ácido tereftálico aislados a partir de las hojas de (*Salix babylonica*) (Khatoon, Khabiruddin, & Ansari, 1988). Además, se han extraído compuestos flavonoides como luteolin-7-O-β-D-glucopiranósido, luteolina y crisoeriol (Salem *et al.*, 2011), luteolina-6-C-β-D-

glucopiransida (iso-orientina) y dos glucósidos fenólicos; tricocarpina y tremuloidina (Zeid, 2006) de la misma planta.

Particularmente la salicina de origen natural se conforma por un azúcar y un compuesto identificado como ácido salicílico, el cual ha sido usado terapéuticamente por los humanos, y como una molécula de señalización endógena activa en mecanismos de defensa por las plantas, otorgándoles resistencia contra patógenos, tolerancia al estrés, además de cambios fisiológicos y reproductivos (Delaney *et al.*, 1994).

Los compuestos fenólicos se consideran como reguladores de crecimiento, siendo uno de ellos, el ácido salicílico que ha evidenciado capacidades reguladoras específicas, además de participación en procesos como cierre de estomas, germinación de semillas, producción de fruto y glucólisis (Klessig & Malamy, 1994; Vlot, Dempsey, & Klessig, 2009).

2.8 Índice Plastocrónico IP

En estudios de desarrollo morfológico y fisiológico de plantas completas u órganos de plantas, frecuentemente los resultados son graficados contra la edad cronológica. Puede existir gran variabilidad entre plantas de la misma edad cronológica respecto a su desarrollo fisiológico. Además, plantas que aparentemente son morfológicamente iguales pueden ser de edad cronológica muy diferente. Mucha de esta variabilidad puede ser reducida, si en los experimentos se utilizan plantas genéticamente uniformes y, además, si las condiciones experimentales son estrictamente controladas. Sin embargo, en la naturaleza no podemos tener ninguna de estas dos condiciones (Harper, 2001)

Se deriva un índice que especifica con precisión el estado de desarrollo de un brote vegetativo, con referencia particular al *Xanthium*. Este IP tiene la fórmula $IP = n + \log Ln - \log 10 / \log Ln - \log Ln + 1$, donde n es el número de serie de la hoja más larga que una longitud arbitraria de referencia, 10 mm, y log Ln es el logaritmo de la longitud de la hoja n. IP se muestra linealmente relacionado con el tiempo durante el crecimiento vegetativo y, por lo tanto, puede utilizarse como un eje de tiempo sustitutivo en muchos estudios. Se recomienda el uso del IP en estudios de desarrollo de brotes y del IP de hoja similar (IPL) en estudios de desarrollo foliar (Erickson & Michelini, 1957)

El IP provee una escala de tiempo morfológica que ha demostrado ser más confiable que la edad cronológica en estudios que relacionan desarrollo morfológico y fisiológico de órganos o de una planta completa. También, proporciona una herramienta para el cálculo de producción de diferentes partes de plantas como, por ejemplo, producción de hojas por tallo; producción de vainas por tallo, producción de rizomas por tallo producción de raíces por tallo etc. (Solana-Arellano, 2001).

2.9 Injertos

Se define como el método artificial de propagación vegetativa desarrollada en plantas, que consiste en unir una porción de tejido procedente de una planta sobre otra ya asentada, produciendo el conjunto de ambos para el desarrollo de un solo organismo. (Rojas González & García Lozano, 2004)

Los injertos son utilizados en la mayoría de casos para propagar vegetales leñosos de uso comercial como árboles frutales u ornamentales, donde el objetivo es mejorar circunstancias

desfavorables para su desarrollo y con esto se aproveche las características genéticas del patrón (parte de planta con raíz), o para asegurarse que las características productivas de un ejemplar se mantengan alteradas, frente a la dispersión genética que introduce la reproducción asexual vegetativa. En el caso de híbridos de número cromosómico impar, que son estériles por naturaleza, la propagación vegetativa es la única manera de reproducción posible. Inusualmente el injerto se emplea para unir más de una variedad en un mismo patrón, en la mayoría de casos se obtiene un único ejemplar que produce frutos y/o flores de varias características. (Rojas González & García Lozano, 2004)

Debido a la incompatibilidad de los tejidos y al no darse una conexión vascular, la práctica de injertos únicamente se puede dar entre especies estrechamente relacionadas. Normalmente, el límite está dado por la pertenencia a un mismo género, aunque existen excepciones; algunos géneros de las rutáceas o las cucurbitáceas logran funcionar como portainjerto para especies afines.

En la mayoría de los casos, una de las variedades se selecciona como raíz por su resistencia y mostrar resistencia a varias enfermedades o ser altamente productiva, y la porción vegetativa de la especie elegida como variedad se injerta sobre esta primeramente elegida. En otros casos, una yema de la variedad se injerta lateralmente en el tronco del patrón, y sólo después de asegurarse la fusión exitosa se corta la porción vegetativa primaria. (Rojas González & García Lozano, 2004)

2.9.1 Historia

Se desconoce el origen exacto. La práctica de propagar plantas y mejorarlas mediante injerto surgió en forma independiente en varias partes del mundo. Se puede marcar la evolución de

los injertos señalando las referencias hechas por científicos, jardineros y figuras públicas (Homer, 1870).

2.9.1.1 El primer injerto

Mediante la simple observación de la unión natural de ramas de árboles que crecieron entre sí, se deduce se originó el primer injerto, para luego las personas replicaron lo indicado. Esto puede deducirse a términos tempranos como el injerto por aproximación. Se cree que los chinos injertaban brotes y ramas que contenían yemas desde el año 2.000 a.C. (Hoyt, 2016).

2.9.1.2 Griegos y romanos

Aristóteles (384-322 a.C.) escribió: "El injerto de uno sobre otro es mejor en el caso de los árboles que son similares y tienen las mismas proporciones". Su estudiante Teofrasto escribió "Historia de las plantas" y "Sobre las causas de las plantas". Observó que era posible propagar plantas mediante esquejes que no tenían raíces. En Romanos 11:16-21, el apóstol Pablo habla sobre injertar olivos "buenos" sobre olivos "silvestres" (Hoyt, 2016).

Los romanos del primer siglo usaban injertos de púa, colocando los tallos en una grieta de la madera. Al trabajar con rosales y frutales, descubrieron que el portainjerto influencia en el vigor y el tamaño de la planta. Los injertos y las yemas eran atados con ramas flexibles o corteza, incluyendo la del sauce. Sellaban los injertos con caliza mezclada con estiércol de ganado o arcilla, luego fue reemplazado por cera de abeja, utilizada actualmente por algunos jardineros gracias a sus propiedades antimicrobianas (Hoyt, 2016).

2.9.1.3 Renacimiento

Mediante la práctica de injertos, marineros y exploradores europeos que llevaron plantas de distintas variedades, durante los siglos XV y XVI, lograron mantener y multiplicar las mismas, sin aún conocer acerca del funcionamiento de los meristemas (Hoyt, 2016).

En su tratado botánico de 1660, "Historia de la propagación y mejoramiento de vegetales por la concurrencia de arte y naturaleza", el naturalista inglés Walter Sharrock describe lo que hasta ahora se mantiene del injerto: "Los árboles de buena producción están hechos de vástagos de árboles fructíferos... los vástagos se deben elegir de los tallos más fuertes y sanos, no de tallos bajos o chupones, que tardarán mucho en producir frutos, lo cual es opuesto al objetivo del injerto" (Hoyt, 2016).

2.9.1.4 Injerto en la Ilustración

Para el siglo XVIII, los ingleses injertaban peras y manzanas. Thomas Jefferson mencionó el injerto en 1767 en un diario de jardinería que mantenía en su residencia en Monticello, indicando haber "inoculado yemas de cerezas comunes en portainjertos de mayor tamaño" (Hoyt, 2016).

2.9.1.5 Injertos en el siglo XIX

Más de 100 técnicas de injerto eran descritas en la literatura, incluyendo muchas que se utilizan ampliamente en la actualidad. En su libro de 1821, "Monographic des Greffes", el botánico francés André Thouin describe 1 119 tipos de injertos (Hoyt, 2016).

2.9.1.6 Injertos modernos

Para la década de 1920, ya era muy común el injerto de sandía en portainjertos de calabacinos. Injerto de tomates, pimientos, pepinos, berenjenas y varios tipos de melones se volvió

popular en países del Mediterráneo y de Asia, con el afán de evitar enfermedades del suelo al cual el calabacín era resistente (Hoyt, 2016).

En América del Norte usan más de 40 millones de plántulas injertadas de tomate por año.

2.9.2 Importancia de los injertos

Muchos autores describen la importancia de la práctica de los injertos al basarse en:

- Asegurar calidad, sabor y productividad.
- Resistencia a enfermedades de las plantas, por ejemplo, injertar sobre naranjo amargo (*Citrus aurantium*), garantiza proteger a nuestras plantas del virus de la tristeza (CTV).
- Resistencia a condiciones adversas del suelo, al injertar sobre mandarino cleopatra, brinda resistencia a la clorosis férrica y a la salinidad, y una resistencia media a la sequía.
- Una pronta iniciación productiva, pues en algunas especies se logra reducir hasta el 50% el tiempo de espera hasta producción.
- Lograr un marco de plantación más extenso, al injertar yemas de naranja variedad Valencia en patrones de *Trifoliata flying dragon*, se obtienen plantas más pequeñas, pero de igual productividad, incrementando la población de las mismas.
- Producir la variedad más rentable de acuerdo a la zona y mercado establecido. En fin, lo que se busca encontrar con la práctica de injerto es reunir el mayor número posible de ventajas competitivas frente al variable mercado al que nos enfrentamos actualmente, además de la aparición de nuevas plagas y enfermedades que ocasionan daños en las plantas.

2.9.3 Tipos de injertos

2.9.3.1 Por aproximación

Consiste en la soldadura o unión de 2 ramas.

1. Se realiza a partir de dos plantas enteras.
2. Tienen que estar plantadas, contenidas en una maceta, o bien, una cerca de la otra independientemente de la situación.
3. Se realiza un corte profundo, similar y a la misma altura en cada una de las ramas seleccionadas, quitando centímetros de corteza con un poco de madera.
4. Se unen las partes encajando perfectamente. Se requiere que el cambium de las dos plantas quede en completo contacto, sino se espera un seguro fracaso del injerto.
5. Se cubre la unión con cinta para injertar, haciendo presión para evitar el ingreso de agua o aire que dañara el injerto.
6. Se corta la parte vegetativa de la planta que está por encima del injerto, conservando la de nuestro interés y aprovechándonos de la raíz del portainjerto.
7. Se recomienda dejar una rama alterna en caso de no lograr la practica realizada poder contar con otra similar para realizar nuevamente el injerto.

El injerto por aproximación se emplea en los árboles que son difíciles de injertar por otro tipo.

(Rojas González & García Lozano, 2004)

2.9.3.2 De hendidura

Se requiere un porta-injerto (tallo) parecido al diámetro del injerto a introducir, favoreciendo así el contacto entre estos. Se requiere que la parte vegetativa a injertarse contenga dos o más yemas. Al final se ejerce presión con la cinta de injerto para evitar el ingreso de agua o aire que podrían dañar el prendimiento.

Existen varios métodos para realizar injertos de hendidura:

- De hendidura inglés
 - De corona
 - De puente
 - De silleta
 - De hendidura simple
 - De incrustación
1. El portainjerto debe ser cortado en forma de cuña por la mitad desde la parte superior hacia abajo. Para esto se utiliza una navaja con buen filo que no dañe en mayor proporción el tejido vegetal.
 2. Se selecciona varetas que contengan yemas no tan maduras ni muy jóvenes. Se corta la yema y realiza una cuña en la punta que será incrustada en el portainjerto.
 3. Se introduce la yema en el portainjerto y se aprieta con cinta para injertar ejerciendo cierta presión para evitar el ingreso de agua o aire. (Rojas González & García Lozano, 2004)

2.9.3.3 De yema

Los más utilizados son:

- Parche
- Anillo
- Micro-injerto
- Injerto en T

También denominado injerto de escudete o injerto inglés, en el cual se usa un trozo de corteza del injerto que se introduce bajo la corteza del tronco del patrón. La parte vegetativa a introducirse debe provenir de ramas jóvenes, productivas y de buen vigor. Cuando brotan las yemas injertadas, se corta la parte superior del portainjerto para permitirles ser las ramas dominantes. (Rojas González & García Lozano, 2004)

2.9.4 Afinidad /compatibilidad

2.9.4.1 Métodos tradicionales en el estudio de la compatibilidad patrón-variedad

Se evalúan anomalías vegetativas en los árboles y en las hojas, así como las roturas producidas en los árboles sometidos al forzado mecánico mediante inclinación de los árboles en sentido contrario a las soldaduras de los injertos. Las observaciones relativas a la estructura interna de las uniones se hacen sobre la superficie interior tras un corte longitudinal de las mismas. Posteriormente se clasifican según el grado de perfección de su estructura interna, en cinco categorías denominadas A, B, C, D y E que abarcan desde uniones perfectas (A): la línea de unión entre patrón y variedad es imperceptible o ligeramente perceptible por distinta coloración de las

maderas) hasta uniones que rompen al forzarlas o con un elevado grado de discontinuidad en la madera (E) (Herrero, 1951).

2.9.4.2 Aplicación de técnicas histológicas para el conocimiento del desarrollo del injerto

Estudios han puesto de manifiesto que, mientras que no se observan diferencias en el desarrollo externo de la unión, sí se observan diferencias en las primeras semanas de desarrollo, cuando el callo inicial diferencia hacia conexiones vasculares. El comportamiento de estas células determina la futura respuesta de injerto, puesto que una falta de diferenciación afecta al desarrollo de nuevo xilema y floema, causando discontinuidades en la unión. El contenido y naturaleza de las células implicadas en las primeras etapas de formación pueden jugar un papel muy importante en el desarrollo de las respuestas que llevan a la formación de uniones fuertes y satisfactorias. (Herrero, 1951)

2.9.4.3 Procesos bioquímicos asociados a la compatibilidad de injerto

Los compuestos fenólicos han sido analizados por muchos investigadores debido a la amplia variedad de funciones que poseen. Entre ellas cabe citar su implicación en los procesos de incompatibilidad de injerto; fundamentalmente por su participación en la ruta de síntesis de la lignina, cuya alteración podría provocar acumulaciones que afectarían negativamente al desarrollo de conexiones normalmente lignificadas. La relación existente entre las acumulaciones de algunos de estos compuestos con los problemas de incompatibilidad que presentan distintas combinaciones ha sido también estudiada en árboles frutales, determinándose que estas diferencias en el contenido fenólico de combinaciones de injerto pueden resultar en disfunciones metabólicas entre las células pertenecientes tanto al patrón como a la variedad. Recientes estudios realizados en el CITA sobre las respuestas iniciales de incompatibilidad han abierto una nueva vía de investigación al

determinar, mediante la aplicación de técnicas de biología celular y molecular, un aumento en la expresión de una enzima, la fenilalanina amonio liasa (PAL) implicada en la ruta fenilpropanoide en uniones incompatibles, que refleja una falta de adaptación entre las dos partes que forman la unión (Pina A, 2007).

2.10 Cítricos

Tuvieron origen hace unos 20 millones de años en el sudeste asiático. Desde entonces hasta ahora han sufrido numerosas modificaciones debidas a la selección natural y a hibridaciones tanto naturales como producidas por el hombre. El mayor consumo se da fresco, para la elaboración casera de zumos y refrescos y como condimento para diversidad de platos. En los últimos tiempos se ha incrementado el uso industrial para la obtención de zumos naturales y concentrados, aceite esencial, pulpas, pectinas, flavonoides, piensos y otros. Últimamente se ha desarrollado la producción de ácido cítrico natural con destino a la elaboración de conservas naturales. Los precios son similares entre las especies, al igual que los rendimientos, aunque resultan algo superiores en mandarina y limón por tener un mercado selectivo, aunque las características de comercialización y consumo del limón divergen del resto, al ser éste un condimento y no un postre (Infoagro, 2017).

Debido a la ubicación geográfica del Ecuador, se cuenta con las condiciones climáticas y ambientales necesarias para la producción de cítricos, en sus diferentes regiones y provincias: Machala, Santo Domingo, Santa Elena, Cerecita, entre otros. Las exportaciones benefician a pequeños productores y trabajadores que laboran en las empresas privadas certificadas de comercio justo y orgánico. Así mismo, las exportaciones generan un alto componente cultural al trabajar con productores de zonas rurales. El principal país para exportación es EE UU alcanzando una

participación del 55% debido al no pago de arancel. Las Mipymes constituyen el 75% de exportación del limón (PROECUADOR, 2017).

2.10.1 Limón

Árbol de hoja perenne y espinoso de la familia de las rutáceas. Se desarrolla con éxito en los climas templados y tropicales, cultivándose a nivel mundial.

2.10.2 Estacionalidad

Presentes en el mercado mundial durante todo el año.

2.10.3 Porción comestible

64 gramos por cada 100 gramos de producto fresco.

2.10.4 Fuente de nutrientes y sustancias no nutritivas

Potasio, vitamina C, ácidos orgánicos y flavonoides.

2.10.5 Valoración nutricional

Los componentes más interesantes del limón son los fitonutrientes. Los limonoides, compuestos que se encuentran localizados en la corteza, y que parecen contribuir a la prevención frente a algunos tipos de cáncer. Tanto la capa blanca que se encuentra debajo de la corteza como la pulpa, presentan flavonoides (citroflavonoides), a los que se han atribuido propiedades antiinflamatorias (EFSA, 2010).

2.10.6 Composición Nutricional del limón

	Por 100 g de porción comestible	Por unidad (110 g)	Recomendaciones día-hombres	Recomendaciones día-mujeres
Energía (Kcal)	44	31	3.000	2.300
Proteínas (g)	0,7	0,5	54	41
Lípidos totales (g)	0,4	0,3	100-117	77-89
AG saturados (g)	—	—	23-27	18-20
AG monoinsaturados (g)	—	—	67	51
AG poliinsaturados (g)	—	—	17	13
ω -3 (g)*	—	—	3,3-6,6	2,6-5,1
C18:2 Linoleico (ω -6) (g)	—	—	10	8
Colesterol (mg/1000 kcal)	0	0	<300	<230
Hidratos de carbono (g)	9	6,3	375-413	288-316
Fibra (g)	1	0,7	>35	>25
Agua (g)	88,9	62,6	2.500	2.000
Calcio (mg)	12	8,4	1.000	1.000
Hierro (mg)	0,4	0,3	10	18
Yodo (μg)	3	2,1	140	110
Magnesio (mg)	18	12,7	350	330
Zinc (mg)	0,12	0,1	15	15
Sodio (mg)	3	2,1	<2.000	<2.000
Potasio (mg)	149	105	3.500	3.500
Fósforo (mg)	16	11,3	700	700
Selenio (μg)	1	0,7	70	55
Tiamina (mg)	0,05	0,04	1,2	0,9
Riboflavina (mg)	0,03	0,02	1,8	1,4
Equivalentes niacina (mg)	0,17	0,1	20	15
Vitamina B₆ (mg)	0,11	0,08	1,8	1,6
Folatos (μg)	7	4,9	400	400
Vitamina B₁₂ (μg)	0	0	2	2
Vitamina C (mg)	50	35,2	60	60
Vitamina A: Eq. Retinol (μg)	2,3	1,6	1.000	800
Vitamina D (μg)	0	0	15	15
Vitamina E (mg)	0,5	0,4	12	12

Figura 6. Composición Nutricional Limón. Fuente: (EFSA, 2010)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Ubicación política y geográfica de la investigación

La presente investigación se realizó en el Centro Experimental Alonso Tadeo, ubicado en la parroquia La Concepción, cantón Mira, provincia del Carchi, al norte de Ecuador. Se localiza en las siguientes coordenadas geográficas: 00°36'3.0'' latitud norte, 77°07'51.0'' longitud Oeste; a una altitud de 1 436 m.s.n.m, donde prevalecen temperaturas promedio de 23°C y 450 mm de precipitación anual.

3.2. Factores de estudio

Los factores de estudio presentados en la investigación son: los métodos de extracción de compuestos de sauce llorón (*Salix babylonica*) sean éstos por arrastre de vapor o maceración, el área de la planta como son hojas o tallos de donde se realiza la extracción, y finalmente la forma de aplicación de dichos compuestos en la planta injerta, siendo a manera foliar/caulinar o drench. Para la comprensión se ha diseñado los siguientes cuadros de factores de estudio:

Tabla 3.

Factor 1. Métodos de extracción

Factor	Código	Descripción
1	M1	Arrastre de vapor
2	M2	Maceración

Tabla 4.*Factor 2. Partes de la planta para extracción*

n.º	Código	Descripción
1	P1	Hojas
2	P2	Tallos

Tabla 5.*Factor 3. Forma de aplicación*

n.º	Código	Descripción
1	F1	Drench
2	F2	Foliar/caulinar

Los tratamientos son el resultado de las interacciones encontradas entre factores de estudio, resultando así:

Tabla 6.*Tratamientos en estudio*

Número tratamiento	Código	Descripción
1	M1P1F1	Arrastre de vapor de hojas y aplicación drench
2	M1P1F2	Arrastre de vapor de hojas y aplicación foliar
3	M1P2F1	Arrastre de vapor de tallos y aplicación drench
4	M1P2F2	Arrastre de vapor de tallos y aplicación foliar
5	M2P1F1	Maceración de hojas y aplicación drench
6	M2P1F2	Maceración de hojas y aplicación foliar
7	M2P2F1	Maceración de tallos y aplicación drench
8	M2P2F2	Maceración de tallos y aplicación foliar

CONTINÚA

9	Químico (Ácido salicílico)	Utilizado en experimento (Silimaster)
10	Testigo	Ningún tratamiento

3.3. Descripción del experimento

En total fueron 10 tratamientos incluido el testigo, con 4 repeticiones cada uno, teniendo al final 40 unidades experimentales. Cada unidad experimental constó de 6 plantas de cítricos recién injertadas, evaluando así 240 plantas, en un diseño completo al azar (DCA), con un arreglo factorial $a \times b \times c + 2n$ ($2 \times 2 \times 2 + 2$). Las plantas permanecieron en vivero al 65% de sombra con sarán, durante la evaluación.

Tabla 7.
Descripción del experimento.

Tratamientos	10
Repeticiones:	4
Área del Experimento:	79.75 m ²
Descripción de la unidad experimental	
Número de plantas en la parcela total:	240 plantas
Número de plantas en la parcela neta:	24 plantas

Tabla 8.
Distribución de tratamientos del experimento en vivo.

MIP1F1	MIP1F2	MIP2F1	MIP2F2	M2P1F1	M2P1F2	M2P2F1	M2P2F2	QUÍMICO	TESTIGO
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
PLANTAS									

Para la extracción de los compuestos se usaron dos métodos. Primero por maceración, donde se colocó las hojas y tallos del sauce (*Salix babylonica*) en frascos por separado, con alcohol potable a 96°GL como disolvente, a temperatura ambiente, durante una semana con agitación esporádica, se filtró y obtuvo el extracto.

El otro método fue la destilación por arrastre con vapor de agua, donde éste arrastró los componentes volátiles de los tallos y hojas del sauce (*Salix babylonica*), y finalmente mediante la aplicación de frío se condensó y acumuló. Los procesos antes mencionados se realizaron en los laboratorios de química de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, supervisados por un laboratorista especializado.

Se aplicó una dosis de 5 mL de extracto por planta, previo a una prueba en campo donde se evaluó al 3, 5 y 7% respectivamente, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 9.

Prueba en campo que determina dosis adecuada para investigación

Porcentaje de dosis extractos	3	5	7
Número de plantas evaluadas	30	30	30
Número de injertos exitosos	20	27	27

Productor de SiliMaster, usado en la investigación como tratamiento químico, también recomienda el uso de dosis al 5%, por lo que se aplicó la cantidad antes mencionada en la investigación.

Se mezclaron 120 mL de extracto en 1 000 mL de agua para la aplicación foliar (asperjadas a 24 plantas/tratamiento) y 120 mL de extracto en 1 800 mL de agua para aplicación drench (75 mL/planta), para cada tratamiento. La misma dosificación fue usada para el tratamiento químico, de acuerdo a la forma de aplicación, sin usar ninguno de los antes mencionados en testigo.

3.4. Análisis estadístico

Las herramientas estadísticas utilizadas para el procesamiento de datos fueron: análisis de varianza (ANOVA), prueba de Tukey con nivel de significancia al 5%, cálculo de la media y coeficiente de variación (CV). El software utilizado para efectuar el análisis estadístico fue el INFOSTAT versión libre.

Tabla 10.
Esquema del análisis de varianza

Fuente de Variación	gl
Total	39
(Tratamientos)	(9)
Métodos de extracción	1
Parte de la planta	1
Forma de aplicación	1
Métodos de extracción x Parte de la planta	1
Métodos de extracción x Forma de aplicación	1
Área de la planta x Forma de aplicación	1
Métodos de extracción x Parte de la planta x Forma de aplicación	1
Tratamientos adicionales	1
Factorial vs. Tratamientos adicionales	1
Error Experimental	30

3.5. Variables Medidas

a) Estrés de tipo biótico y abiótico. –

Se contabilizará el número de plantas que presenten síntomas de estrés biótico ocasionado por daño del minador de hoja (*Phyllocnistis citrella*), visualmente, de manera semanal durante un mes (4 evaluaciones). En cada evaluación se elegirán 4 plantas por cada tratamiento y cada repetición. No se realizará evaluación de estrés abiótico debido a que el experimento se desarrollará en un vivero donde se logra el control parcial de la temperatura y total de la humedad.

- b) Prendimiento de injertos.** - Se contabilizará de manera visual el número de injertos exitosos y no, al momento de retirar la cinta de injerto por única ocasión, a los 30 días después de la práctica de injerto.
- c) Tiempo de aclimatación.** - Mediante la evaluación de índice de área foliar se establecerá el tratamiento que alcance el mayor desarrollo en el menor tiempo hasta alcanzar plantas listas para aclimatación fuera del vivero. En cada evaluación se elegirán 4 plantas por cada tratamiento y cada repetición. En total serán 3 evaluaciones, con lapso de 30 días entre cada una. La fórmula utilizada fue:

$$IAF = \left(\frac{(\text{Área Foliar})(\text{Densidad Población})}{\text{Área Sembrada}} \right)$$

Se multiplica el largo por el ancho y por el factor 0.75, se promedia los resultados y se divide para el área calculada donde está ubicada cada planta.

- d) Porcentaje de crecimiento y desarrollo.** - Se evaluará el crecimiento y desarrollo de las plantas de cítricos injertadas, caracterizando al mejor tratamiento mediante el Índice Plastocrónico (IP). En cada evaluación se elegirán 4 plantas por cada tratamiento y cada repetición. En total serán 3 evaluaciones, con lapso de 30 días entre cada una. La fórmula utilizada es:

$$I.P = n + \frac{\text{Log. ln} - \text{Log 10}}{\text{Log. Ln} - \text{Log. ln 1}}$$

Dónde:

I.P = Índice Plastocrónico

n = Número de serie de la hoja (de la hoja más cercana que excede la longitud e de la hoja crítica)

$\log 10$ = Longitud de la hoja crítica

\ln = Longitud de la hoja más cercana que excede el valor de la hoja n

$\ln 1$ = Longitud de la hoja ligeramente menor a un centímetro

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Estrés de tipo biótico y abiótico. -

La siguiente tabla muestra el daño ocasionado por el minador de la hoja (*Phyllocnistis citrella*), durante 4 evaluaciones comprendidas en 30 días.

Tabla 11.
Análisis de varianza para daño por minador de hoja

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
Modelo	20,10	9	2,23	1,09	0,3992	ns
Tratamientos	20,10	9	2,23	1,09	0,3992	ns
Error	61,50	30	2,05			
Total	81,60	39				

ns: no significativo

En la tabla 11 se muestra $p > 0.05$ con lo que se demuestra que no existe significancia en la prueba, y se rechaza la hipótesis alterna.

Ninguno de los tratamientos mostró diferencias estadísticamente significativas en lo que respecta a daño por minador de hoja. Según Ballaré (2011) de acuerdo con la naturaleza antagónica entre el ácido salicílico (AS) y el ácido jasmónico (AJ), se ha reportado la disminución de la resistencia a insectos herbívoros en plantas tratadas con AS o infectadas con patógenos inductores del AS. Es decir, que esta interacción explicaría la incapacidad de una planta de defenderse al mismo tiempo y con igual efectividad tanto de patógenos como de plagas.

Urbaneja, Catalán, Tena, & Jacas (2018), del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (ivia), mencionan que el minador de la hoja genera mayor daño en brotes nuevos,

indicando que puede tener mayor incidencia en viveros, nuevas plantaciones e injertos, donde traza una galería sinuosa al mismo tiempo alimentándose de la hoja entre el parénquima y la cutícula, aprovechando la superficie foliar en lo que va del crecimiento de la misma. El minador posee gran fecundidad al alcanzar 70 huevos/hembra a 25°C, unido a la velocidad de crecimiento 11 días/32°C, convirtiéndose en una plaga de alto potencial biótico.

En la ilustración se muestra los daños producidos por el minador de la hoja (*Phyllocnistis citrella*) en plantas en vivero y naranja de 6 años de edad.



Figura 7. Formación de galerías por minador de la hoja.



Figura 8. Cutículas afectadas y rotas por acción de minador de hoja

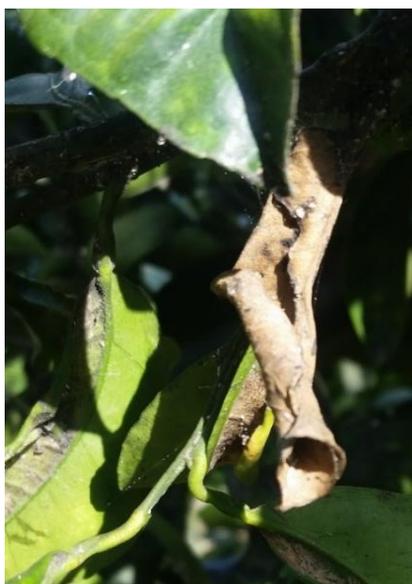


Figura 9. Desarrollo de cámara pupal por minador de hoja

Las plantas mayormente afectadas son aquellas que reciben riego localizado, donde el periodo de brotación es más extenso, provocando una disminución en el crecimiento e incluso el

daño de pequeños frutos recién cuajados, además del descenso de la actividad fotosintética que se traduce en la pérdida de vigor y posterior productividad.

Rangel, Castro, Beltran, Reyes de la Cruz, & García (2010), también mencionan que plantas mutantes que habían sido afectadas en la acumulación de AS mostraron un aumento en la susceptibilidad ante el ataque de patógenos biótrofos o hemibiótrofos. Esto nos indica que el AS no genera efectos de resistencia ante el ataque del minador de la hoja, y al ser una plaga fácilmente reproducible, se afectaron la mayoría de plantas expuestas a la presente investigación.

b) Prendimiento de injertos. -

En la siguiente ilustración se observa los resultados mostrados en barras del porcentaje de injertos exitosos por cada tratamiento.

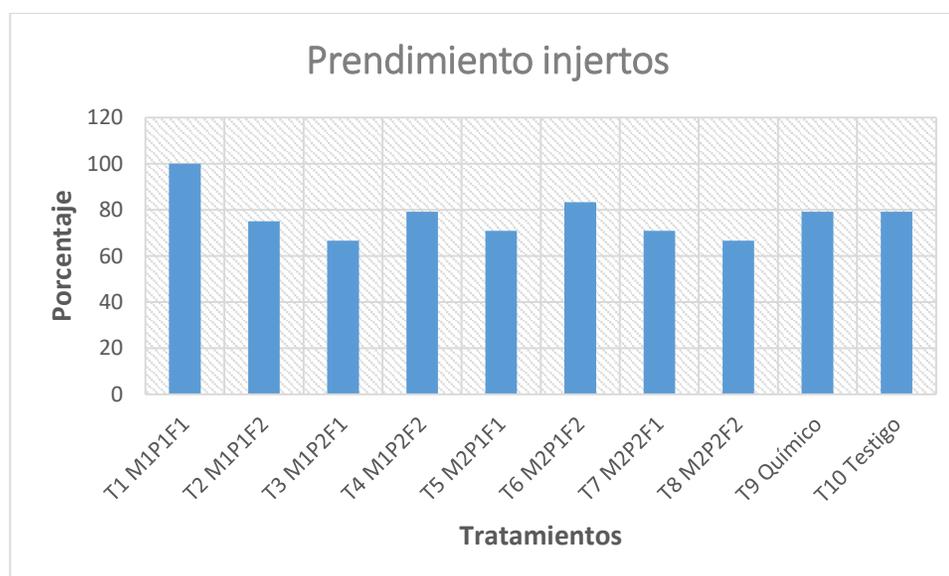


Figura 10. Porcentaje de prendimiento de injertos. T1 Arrastre de vapor de hojas y aplicación drench. T2 Arrastre de vapor de hojas y aplicación foliar. T3 Arrastre de vapor de tallos y aplicación drench. T4 Arrastre de vapor de tallos y aplicación foliar. T5 Maceración de hojas y aplicación drench. T6 Maceración de hojas y aplicación foliar. T7 Maceración de tallos y aplicación drench. T8 Maceración de tallos y aplicación foliar. T9 Químico Silimaster. T10 Ningún tratamiento.

T1 extracto por arrastre de vapor de tallos y aplicación al drench (M1P1F1) muestra un prendimiento del 100%, en relación al T10 con una aproximación al 80%, significando una ventaja competitiva ante los demás ya que generalmente se acepta un 10% de no prendimiento en la práctica de injertos en vivero.

El AS forma parte del grupo de los fenólicos, quienes poseen en su estructura química un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático. Éstos participan en diversas funciones metabólicas en plantas, como la síntesis de lignina que viene siendo el segundo elemento importante de la composición vegetal al ser el constituyente intercelular incrustante de las células fibrosas, además la actividad alelopática y la biosíntesis de fitoalexinas relacionadas a la defensa natural de la planta (Rangel, Castro, Beltran, Reyes de la Cruz, & García, 2010)

Según Durner, Shah, & Klessig (1997) la inhibición de la catalasa podría conducir a un incremento en la concentración del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) o de otras especies reactivas de oxígeno derivadas de esta molécula. El H_2O_2 podría tener una actividad antibiótica en contra de patógenos, y sus intermediarios podrían en la cascada de señalización para la expresión de genes de defensa.

Contreras, Cajaleón, Palomares, Amaro, & del Solar (2014), mencionan que las plantas responden con una cascada de señalizaciones dependientes del ácido salicílico que conducen a la expresión sistémica de resistencia de amplio espectro y a una resistencia duradera que es eficaz contra hongos, bacterias e infecciones virales.

La aspirina, proveniente del AS, aumenta la vida en florero de flores cortadas, probablemente por la combinación en inhibir la biosíntesis de etileno y celulosa en los tejidos, presentando un modo de retraso en la marchitez o senescencia (Ferrarese, Moretto, & Casadoro, 1996). Con lo anterior podemos inducir que la presencia de AS permitió que las varetas no sufran

deshidratación temprana y logren el acople a nivel celular con la planta madre o bien llamada patrón.

Chen, Chao, & Singh (1996), reportan la modificación del balance redox celular, donde la aplicación de AS o H₂O₂, induce la expresión de glutación-S-transferasa, que son una familia de enzimas involucradas en la destoxificación de xenobióticos además de la protección contra daños oxidativos. Traducido a la investigación, inferimos en que las plantas han podido sobrellevar la oxidación que pudiera ocurrir por el corte al momento de realizar la práctica de injerto, logrando así obtener un mayor porcentaje de injertos exitosos.

Fernández (2016), demuestra que el NH₄⁺ actúa como inductor de resistencia frente a estrés salino en cítricos, resultando en la acumulación de ABA, poliaminas (PAs), H₂O₂ (comparado como AS por Chen, Chao, & Singh, 1996) y prolina, mismos que reducen los síntomas de la enfermedad producida por Pst (*Pseudomonas syringae* pv. tomato), siendo clave para la inducción de aclimatación sistémica adquirida (SAA) generando resistencia de las plantas de tomate frente a Pst.

Loreto, M. , (s.f.), menciona que el AS es una hormona fenólica que se produce en plantas en condiciones de estrés, que codifican para enzimas con funciones antioxidantes y destoxificantes (glutaredoxinas, glutación S-transferasas y UDP-glicosil transferasas), modulando el estrés oxidativo y la prevención en la proliferación de patógenos.

Con lo anteriormente citado, se deduce que la aplicación del extracto de tallos mediante arrastre de vapor y aplicación drench, mejoró el éxito de los injertos al no permitir un daño por enfermedades fungosas, gracias a la presencia del peróxido de hidrógeno y señalizaciones dependientes del AS.

c) **Tiempo de aclimatación. -****Tabla 12.***Análisis de varianza para Índice de Área Foliar*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
Modelo	0,08	9	0,01	13,30	0,0001	**
Tratamientos	0,08	9	0,01	13,30	0,0001	**
Error	0,01	20	6,9E-04			
Total	0,10	29				

**Altamente significativo

En la tabla 12 se muestra $p < 0.05$ con lo que se demuestra que si existe significancia en la prueba.

A los 30 y 60 ddi se determina que el T5 obtiene el mayor Índice de Área Foliar (IAF) con 0.17 y 0.20 de media respectivamente. A los 90 ddi se observa que T4 y T5 alcanzan los mejores resultados con 0.33 y 0.34 respectivamente, en contraste con el testigo que indica un IAF de 0.16, mostrando que han tenido un mayor desarrollo de follaje.

Tabla 13.*Índice de Área Foliar por tratamientos evaluados*

TRATAMIENTOS	30 ddi	60 ddi	90 ddi
T1 M1P1F1	0.07 b c	0.14 b c	0.26 a b c
T2 M1P1F2	0.09 b c	0.15 b c	0.29 a b
T3 M1P2F1	0.09 b c	0.21 b c	0.30 a b
T4 M1P2F2	0.13 a b	0.21 a b	0.33 a
T5 M2P1F1	0.17 a	0.20 a	0.34 a
T6 M2P1F2	0.07 b c	0.12 b c	0.20 c d
T7 M2P2F1	0.12 a b	0.18 a b	0.29 a b

CONTINÚA

T8 M2P2F2	0.10	b c	0.17	b c	0.28	a b
T9 Químico	0.08	b c	0.18	b c	0.24	b c
T10 Testigo	0.05	c	0.12	c	0.16	d

(ddi) días después del injerto. T1 Arrastre de vapor de hojas y aplicación drench. T2 Arrastre de vapor de hojas y aplicación foliar. T3 Arrastre de vapor de tallos y aplicación drench. T4 Arrastre de vapor de tallos y aplicación foliar. T5 Maceración de hojas y aplicación drench. T6 Maceración de hojas y aplicación foliar. T7 Maceración de tallos y aplicación drench. T8 Maceración de tallos y aplicación foliar. T9 Químico Silimaster. T10 Ningún tratamiento.

Según Tucuch, Alcántar, & Larqué (2005), aspersiones de concentraciones 1 μM de ácido salicílico al dosel de plántulas de trigo incrementan significativamente el peso fresco de la raíz, altura de la planta y la biomasa fresca total. También existe una tendencia a estimular la elongación de la raíz hasta 21% en promedio. Señalan además que en solo 10 días después de la aplicación del tratamiento se encontraron estas respuestas, lo cual da idea de que el regulador actúa casi de forma inmediata, para favorecer los estímulos correspondientes que se traducen en las diferencias reportadas.

San Miguel, Gutiérrez, & Larqué-Saavedra (2003) resuelven que los efectos del AS también se expresan en un aumento en la producción de biomasa en soya y pino. Salisbury & Ross (1994), concuerdan en que los cambios en crecimiento encontrados se deben a que el AS fomenta la producción de ácido indolacético y de ácido naftalenacético, reportados como los principales reguladores de crecimiento vegetal.

Según González, López, & Franco (2003), concentraciones de 5.0 mg/L de AS aplicadas al cultivo de arroz, generan diferencias estadísticamente significativas en crecimiento radicular y biomasa, además aplicaciones de 1.5 y 3.0 mg/L generan mayor vigor a la planta. Resaltando con el experimento es notable el desarrollo general de la planta injertada en relación al testigo absoluto.

Es importante destacar el favorecido desarrollo de tallos que promueve la aplicación de AS en plantas de crisantemo como reportan Villanueva, Alcántar, Sánchez, Soria, & Larque (2009), mostrado en la siguiente ilustración:

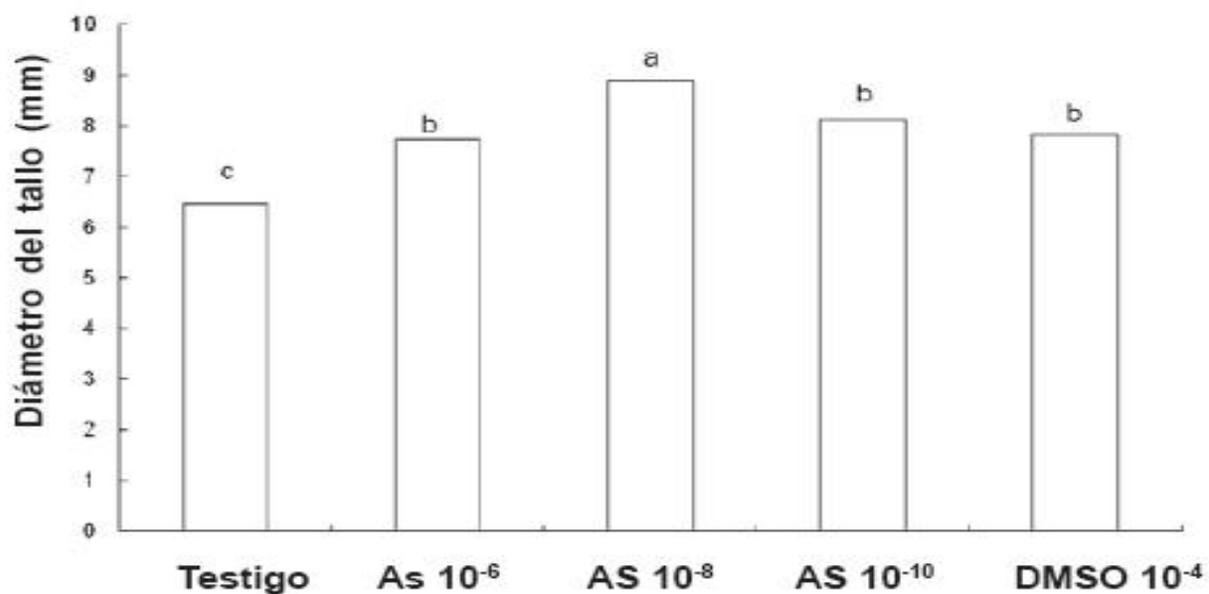


Figura 11. Efecto del AS y DMSO en el diámetro del tallo.

Nota: En plantas de crisantemo var. Polaris White a los 113 días después del trasplante. Letras idénticas son iguales a una $P \leq 0.05$. Fuente: Villanueva, Alcántar, Sánchez, Soria, & Larque (2009).

d) Porcentaje de crecimiento y desarrollo. -

En evaluaciones a los 30 y 60 ddi no existe diferencia estadísticamente significativa, a los 90 ddi muestra a T1 con 13.71, caracterizándolo como el mejor tratamiento, seguido por T2 con 11.14 y T8 con 10.60, en relación al testigo absoluto con 9.09 de media respectivamente. Se realizó la prueba de significancia con Tukey al 5%, mostrando lo siguiente:

Tabla 14.
Análisis de varianza para Índice Plastocrónico IP

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
Modelo	77,87	9	8,65	4,91	0,0004	**
Tratamientos	77,87	9	8,65	4,91	0,0004	**
Error	52,84	30	1,76			
Total	130,71	39				

**Altamente significativo

En la tabla 14 se muestra $p < 0.05$ demostrando que si existe significancia en la prueba.

Tabla 15.
Índice Plastocrónico y prueba Tukey en primera, segunda y tercera evaluación

TRATAMIENTOS	30 ddi	60 ddi	90 ddi
T1 M1P1F1	5.67 a	8.75 a	13.71 a
T2 M1P1F2	4.66 a	6.95 a	11.14 a b
T3 M1P2F1	5.22 a	7.95 a	9.59 b
T4 M1P2F2	5.76 a	7.32 a	9.56 b
T5 M2P1F1	4.34 a	6.96 a	9.22 b
T6 M2P1F2	5.40 a	7.59 a	9.51 b
T7 M2P2F1	5.68 a	8.04 a	8.58 b
T8 M2P2F2	6.35 a	8.48 a	10.60 a b
T9 Químico	5.03 a	8.24 a	9.76 b
T10 Testigo	4.48 a	7.73 a	9.09 b

(ddi) días después del injerto. T1 Arrastre de vapor de hojas y aplicación drench. T2 Arrastre de vapor de hojas y aplicación foliar. T3 Arrastre de vapor de tallos y aplicación drench. T4 Arrastre de vapor de tallos y aplicación foliar. T5 Maceración de hojas y aplicación drench. T6 Maceración de hojas y aplicación foliar. T7 Maceración de tallos y aplicación drench. T8 Maceración de tallos y aplicación foliar. T9 Químico Silimaster. T10 Ningún tratamiento.

Tucuch, Alcántar, & Larqué (2005), se basan en la hipótesis que el AS incrementa el crecimiento radical de las plantas, lo cual favorece la absorción de nutrientes, agua, etc., lo que permite un mayor desarrollo de la planta.

Larqué, Martín, Nexticapan, Vergara, & Gutiérrez (2010), señalan que el AS incrementa significativamente la altura, el área foliar, el peso fresco y seco del vástago, así como la longitud, el perímetro y el área de la raíz del tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*). El tratamiento de 1 μM de AS, incrementó la longitud de la raíz 43%, 14.8% el tamaño del tallo y 38.6% el área foliar en comparación con el control. Todo debido a un incremento significativo de tamaño y calidad de la raíz, logrando un aprovechamiento potencial de nutrientes y agua.

Tucuch, Alcántar, & Larqué (2015) en evaluaciones realizadas en plántulas de trigo pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas al aplicar 1 μM de AS superando en 18.4% el crecimiento y desarrollo con relación al testigo. Así mismo se encontraron mejoras en la producción de Biomasa Fresca Total superando al control con 19.3%.

Anchondo-Aguilar, y otros (2011) evaluaron bioproduktividad mediante diferentes dosis de AS asperjadas al cultivo de fresa (*Fragaria ananassa*) cv Aromosa, donde encontraron resultados positivos en altura de planta, número de hojas, frutos y flores. En promedio se formaron hasta 4 hojas más por efectos de AS, relacionado con los datos de Martín-Mex, Villanueva-Couoh, Herrera-Campos, & Larqué-Saavedra (2005) que reportan un incremento del número de hojas en violeta africana a dosis de 0.0001 μM . La aplicación de 1 μM de AS mejora notablemente la aparición de flores en las plantas, diferenciándose con un 34% en relación al control.

Así también lo expresa Cleland & Ajami (1974) reportando que con aplicaciones de AS es posible inducir la floración en *Lemna gibba* sustituyendo el fotoperiodo de días cortos. También se halló favorable la producción de frutos, donde a la octava semana de cultivo hubieron 5.1 por planta en relación al testigo que presentó 1.5 de los antes mencionados.

Villanueva, Alcántar, Sánchez, Soria, & Larque (2009), evalúan el efecto en la floración y crecimiento del crisantemo var. Polaris White, las plantas asperjadas con 10^{-6} M de AS superaron al testigo con 7.40 %, además del diámetro que alcanzo 9.8 mm de crecimiento. También se miró la afectación en el peso de materia fresca y seca de follaje y raíz, volumen de raíz y área foliar, el mayor diámetro de la flor (13.6 y 12.6 cm) con los tratamientos 10^{-8} y 10^{-10} M de AS, respectivamente. Fue notable la diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de N, P y K de las hojas y tallos con relación al testigo.

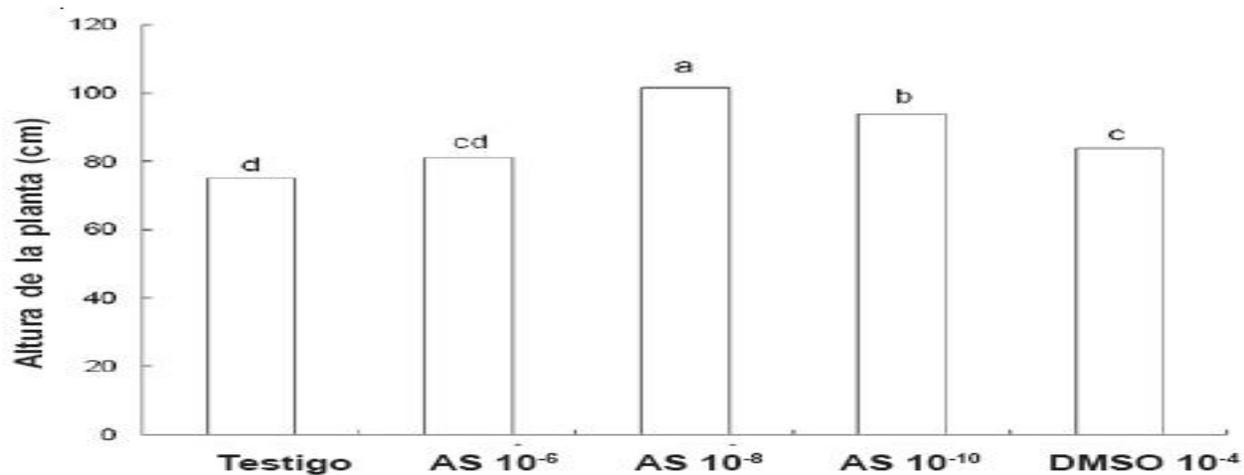


Figura 12. Efecto del AS y DMSA en la altura de plantas.

Nota: del crisantemo var. Polaris White a los 113 días después del trasplante, literales idénticas son iguales a una $P \leq 0.05$. Fuente: Villanueva, Alcántar, Sánchez, Soria, & Larque (2009).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- Los extractos vegetales de sauce llorón (*Salix babylonica*) si funcionan como biorreguladores de crecimiento, además de ser amigables con el ambiente.
- El tratamiento extracto por arrastre de vapor de tallos y aplicación en drench (T1 M1P1F1) mostró un prendimiento de injertos del 100% además de presentar el mayor Índice Plastocrónico caracterizándose como el mejor tratamiento entre los evaluados, mostrando ser un biorregulador de crecimiento.
- Se determinó que la dosis de 5% de extracto vegetal de sauce llorón (*Salix babylonica*) produjo los mejores resultados a nivel de crecimiento y desarrollo y prendimiento de injerto.
- La aplicación tipo drench mostró mejores resultados para IAF e IP, deduciendo que el extracto pudo haber mejorado el sistema radicular de la planta como lo indican varios autores.
- Los resultados fueron difundidos en un taller de capacitación con agricultores de la zona de influencia donde se realizó la investigación experimental.

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

- Usar los extractos en diferentes especies de plantas y en distintos estados fenológicos para contrastar los resultados con los mostrados en la presente investigación.
- Aplicar extractos de manera quincenal hasta la aclimatación de la planta debido a que los compuestos no presentan actividad en largos periodos de tiempo como lo citan varios autores.
- Evaluar extractos para incidencia de daño abiótico puesto que en la presente investigación no fue posible por tener las plantas en ambiente controlado.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA

- Anchondo-Aguilar, A., Núñez-Barrios, A., Ruiz-Anchondo, T., Martínez-Tellez, J., Vergara-Yoisura, S., & Larqué-Saavedra, A. (2011). *Efecto del ácido salicílico en la bioproduktividad de la fresa (Fragaria ananassa) cv Aromosa*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 293-298.
- Arango, O., Hurtado, A., Castillo, P., & SantaCruz, M. (2009). *Estudio de las condiciones de extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de Laurel de cera (Morella pubescens)*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(2).
- Ballaré, C. (2011). *Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals*. *Trends in Plant Science*, 16, 249-257. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.12.001>
- Barrientos, K. A., & Moreno, L. (2008). *Biología reproductiva de la Garza Cuca (Ardea cocoi) en el centro-sur de Chile*. *Ornitología Neotropical*, 19, 485-493.
- Camarena-Gutierrez, G., & de la Torre-Almaráz, R. (2007). *Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual*. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 157-161.
- Carreiras-Albo, W. (1998). *Efectos del repicado y la aplicación de una fitohormona sobre la precocidad de tomate de la variedad "Bruno"*. *Agrícola-Vergel*, 196, 174-178.

- Carvalho, F., Nhan, D., Zhong, C., Tavares, T., & Klaine, Y. (1998). *Rastreo de plaguicidas en los trópicos*. Boletín del OIEA, págs. 24-30.
- Catinot, J., Buchala, A., Abou-Mansour, E., & Métraux, J. P. (2008). *Salicylic acid production in response to biotic and abiotic stress depends on isochorismate in Nicotiana benthamiana*. Febs Letters, 582(4), 473-478.
- Chen, W., Chao, G., & Singh, K. (1996). *The promoter of a H₂O₂-inducible, Arabidopsis glutathione S-transferase gene contains closely linked OBF- and OBP1-binding sites*. The Plant Journal, 955-966.
- Chen, Z., Zheng, Z., Huang, J., Lai, Z., & Fan, B. (2009). *Biosynthesis of salicylic acid in plants*. Plant signaling & behavior, 4(6), 493-496.
- Cleland, C., & Ajami, A. (1974). *Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid*. Plant Physiol, 904-906.
- Contreras, S., Cajaleón, D., Palomares, E., Amaro, E., & del Solar, O. (2014). *Efecto de ácido salicílico y peróxido de hidrógeno en resistencia sistémica adquirida (rsa) en papa (Solanum tuberosum L.) y camote (Ipomoea batatas L.)*. Big bang faustiniano - Revista Indizada de Investigación Científica Huacho, 8-11.
- Cussianovich, P. (2001). *Una aproximación a la agricultura orgánica*. Recuperado el 04 de 2018, de http://webiica.iica.ac.cr/comuniica/n_17/art_1.pdf.
- Davies, P. J. (2010). *The plant hormones: their nature, occurrence, and functions*. In *Plant hormones*. Holanda: Springer Netherlands.

- Delaney, T. P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., & Ryals, J. (1994). *A central role of salicylic acid in plant disease resistance*. *Science*, 266(5188),
- Díaz-Montenegro, D. (2007). *Uso de biorreguladores en el cultivo de hortalizas bajo. Agroenzimas*, 1-6.
- Durner, J., Shah, J., & Klessig, D. (1997). *Salicylic acid and disease resistance in plants*. *Trends in Plant Science*, 2, 266-274.
- EFSA. (2010). *Valoración nutricional del limón*. Obtenido de <http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/limon.pdf>
- Enríquez, M. L., Cruz, A. D., Bilbao, R. O., Miranda, M. M., Ruenes, G. M., & López, H. (2002). *Método Pichansky: maceración de propóleos en alcohol al 70%*. *Patente cubana*, 130-132.
- Erickson, R., & Michelini, F. (1957). *The Plastochron Index*. *American Journal of Botany*, 44(4), 297-305.
- Errea P, G. L. (2001). *“Early detection of graft incompatibility in apricot (Prunus armeniaca) using in vitro*. *Physiol Plantarum*, 35.
- FAO. (1991). *Bioteconología: repercusiones en los países en desarrollo*. *Alimentación, nutrición y agricultura* (1).
- FAO. (1991). *Crecimiento demográfico y crisis alimentaria*. *Alimentación, nutrición y agricultura*.

FAO. (2001). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2001*. Colección FAO: Agricultura(33), 295. Recuperado el Octubre de 2017, de <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/003/x9800s/x9800s.pdf>

FAO. (2003). *¿Qué es la agricultura orgánica? ¿Es la certificación algo para mi? Una Guía Práctica sobre por qué, cómo y con Quién Certificar Productos Agrícolas para la Exportación*, 32.

FAO. (2005). *La importancia de la agricultura en la actualidad*. Agricultura y diálogo de culturas, 1.

FAO. (3 de Abril de 2012). *El pacto mundial contra las plagas de las plantas conmemora sus 60 años de actividades*. Roma. Obtenido de <http://www.fao.org/news/story/es/item/131978/icode/>

FAO. (2016). *Agricultura sostenible y biodiversidad: un vínculo indisociable*. FAO, 10-11.

FAO. (2017). *El futuro de la alimentación y la agricultura. Tendencias y desafíos*. Roma: FAO. Recuperado el 17 de octubre de 2017, de <http://www.fao.org/news/story/es/item/471772/icode/>

Farmacognosia. (s,f). *Temas de Farmacognosia - Plantas medicinales*. Recuperado el marzo de 2018, de <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/>

Fernández, E. (2016). *Estudio integral de los mecanismos de resistencia inducida. Inductores frente a estrés biótico y abiótico*. Tesis Doctorales en Red, 222. Obtenido de <https://www.tdx.cat/handle/10803/398704>

- Ferrarese, L., Moretto, P. T., & Casadoro, G. (1996). *Cellulase involvement in the abscission of peach and pepper leaves is affected by Salicylic acid*. *Journal of experimental botany*, 251-257.
- Ferrer, A. (2003). *Intoxicación por plaguicidas*. *Anales Sis San Navarra*, 26(Supl.1), 155-171. Recuperado el 20 de septiembre de 2017, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292016000300009
- Feys, B., & Parker, J. (2000). *Interplay of signaling pathways in plant disease resistance*. *Trends in Genetics*, 449-455. Recuperado el octubre de 2017, de [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(00\)02107-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(00)02107-7)
- García, M., & Pérez, R. (2003). *Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas*. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 9(1), 5+10.
- Gatehouse, J. (2002). *Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction*. *New Phytologist*, 145-169.
- Gliessman, S. (1998). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Turrialba: Eric Engles .
- González, T., López, Y., & Franco, I. (2003). *Efecto del ácido acetil salicílico sobre la germinación y el crecimiento de la plántula de arroz (Oryza sativa L.)*. *Revista Cubana del Arroz*, 15-22.

- Guntero, V., Longo, M., Ciparicci, S., Martini, R., & Andreatta, A. (2015). *Comparación de métodos de extracción de polifenoles a partir de residuos de la industria vitivinícola*. . Buenos Aires: Asociación Argentina de Ingenieros Quimicos.
- Harper, J. L. (2001). *Utilización de métodos cuantitativos para el estudio de la dinámica de los pastos marinos: Una revisión crítica*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 36(2), 165-180.
- Herrera, J. (1999). *Guía de aplicación de pruebas estadísticas en el programa systat 7.0 para ciencias biológicas y forestales*. Santa Cruz; Bolivia: BOLFOR.
- Herrero, J. (1951). *“Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees*. London: J. Hort.
- Homer, W. (1870). *Spring Farm Work, Grafting*. En *American Painter*.
- Hoyt, R.. *Historia del injerto de plantas*. (Recuperado el 21 de Noviembre de 2016 desde https://citarea.cita-aragon.es/citarea/bitstream/10532/3601/1/2016_111.pdf)
- Infoagro. (2017). *Curso de citricultura on line*. . Obtenido de <http://infoagro.com/citricos/limon.htm>
- INTAGRI. (2017). *Las Fitoalexinas como Mecanismo de Defensa en las Plantas*. Serie Fitosanidad(97), 4.
- Jones, J., & Dangl, J. (2006). *The plant immune system*. *Nature*, 323-329.

- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2005). *Extraction of plant secondary metabolites*. Natural products isolation, 323-351.
- Khatoon, F., Khabiruddin, M., & Ansari, W. H. (1988). *Phenolic glycosides from Salix babylonica*. Phytochemistry, 27(9), 3010-3011.
- Klessig, D. F., & Malamy, J. (1994). *The salicylic acid signal in plants*. In *Signals and Signal Transduction Pathways in Plants*. Pringer Netherlands., (pp. 203-222). .
- Kuč, J. (2001). *Concepts and Direction of Induced Systemic Resistance in Plants and its Application*. European Journal of Plant Pathology, 7-12.
- Larqué, A., Martín, R., Nexticapan, A., Vergara, S., & Gutiérrez, M. (2010). *Efecto del ácido salicílico en el crecimiento de plántulas de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.)*. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 16(3), 183-187.
- Loreto, M. (s.f.). *El Rol del Acido Salicílico en Defensa en Plantas*. Obtenido de http://www.genomicavegetal.cl/?page_id=57
- Loreto, M. (s.f.). *Núcleo milenio de biología sintética & biología de sistemas vegetales*. Recuperado el diciembre de 2017, de http://www.genomicavegetal.cl/?page_id=57
- Martín-Mex, R., Villanueva-Couoh, E., Herrera-Campos, T., & Larqué-Saavedra, A. (2005). *Positive effect of salicylates on the flowering of African violet*. Scientia Hortic, 499-502.
- Moffat, A. (1992). *Improving plant disease resistance*. Science, 257(5069), 482-483.

- Mora Quilismal, S. (2013). *Planificación estratégica en la producción agropecuaria de la hacienda san francisco de la universidad politécnica estatal del Carchi*. Ambato: UTA.
- Pieterse, C., & van Loon, L. (1999). *Salicylic acid-independent plant defence pathways*. Trends in Plant Science, 52-58.
- Pina A, E. P. (2007). “*Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase gene expression in response to in vitro*”. Doi.
- PROECUADOR. (24 de octubre de 2017). *Exportadores conectando tu negocio con el mundo*. Obtenido de <https://www.proecuador.gob.ec/pubs/ficha-de-limon-tahiti/>
- Quintana, O. (2009). *Los extractos vegetales y sus aplicaciones en la agricultura*, pág. 3. Recuperado el Marzo de 2018, de http://www.innovakglobal.com/periodicos_pdf/periodico_innovak_febrero.pdf
- Rangel, G., Castro, E., Beltran, E., Reyes de la Cruz, H., & García, E. (2010). *El ácido salicílico y su participación en la actividad celular*. Biológicas, 12(2), 90-95.
- Richter, M. (1980). *Mejoras en la determinación de amonio por destilación*. Rev. Fac. Agron, 1(2), 1-9.
- Rivas-San Vicente, M., & Plasencia, J. (2011). *Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development*. Journal of experimental botany, 62(10), 3321-3338.
- Rojas González, S., & García Lozano. (2004). *Propagación asexual de plantas: conceptos básicos y experiencias con especies amazónicas*. Republica de Colombia: Universidad de Antioquia.

- Roselló, J. (s.f). *Extractos y preparados vegetales y minerales para plagas y enfermedades en Agricultura Ecológica*. Obtenido de ecoagricultor: <https://www.ecoagricultor.com/vegetales-minerales-plagas-agricultura-ecologica/>
- Ruuhola, T. M., & Julkunen-Tiitto, M. R. (2000). *Salicylates of intact Salix myrsinifolia plantlets do not undergo rapid metabolic turnover*. Plant Physiology, 122(3), 895-906.
- Salem, A. F., Salem, M. Z., Gonzalez-Ronquillo, M., Camacho, L. M., & Cipriano, M. (2011). *Major chemical constituents of Leucaena leucocephala and Salix babylonica leaf extracts*. Journal of Tropical Agriculture, 49, 95-98.
- Salisbury, F., & Ross, C. (1994). *Fisiología Vegetal*. (V. Velásquez, Trad.) México: Grupo Iberoamérica.
- San Miguel, R., Gutiérrez, M., & Larqué-Saavedra, A. (2003). *Salicylic acid increases the biomass accumulation of Pinus patula*. Journal of Applied Forestry , 52-54.
- Sánchez, X. M., & Peralta, M. G. (2013). *Árboles de las áreas urbanas y suburbanas de Morelia, Michoacán, México*. Biológicas. Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 9(1), 12-22.
- Sandoval, C., & Lomba, R. (2007). *Evolución de los conocimientos sobre el Ácido Acetil Salicílico*. Revista Médica Electrónica.
- Sepúlveda-Jimenez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2003). *La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensade las Plantas*. Revista Mexicana de Fitopatología, 21(3), 355-363.

- Shah, J., & Klessig, D. (1996). *Identification of a salicylic acid-responsive element in the promoter of the tobacco pathogenesis-related beta-1,3-glucanase gene, PR-2d*. The plant journal. for cell and molecular biology, 10(6), 1089-1101.
- Solana-Arellano, E. (2001). *Utilización de métodos cuantitativos para el estudio de la dinámica de los pastos marinos: Una revisión crítica*. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 36(2), 165-180.
- Staden, J. (1976). *Occurrence of a cytokinin glucoside in the leaves and in honeydew of Salix babylonica*. Physiologia Plantarum, 36(3), 225-228.
- Suquilanda, M. (1996). *Agricultura orgánica; alternativa tecnológica del futuro*. Quito: UPS.
- Toledo, M. (2005). *La memoria tradicional: la importancia agroecológica de los saberes locales*. LEISA Revista de agroecología, 16-19.
- Tucuch, C., Alcántar, G., & Larqué, A. (2005). *Efecto del ácido salicílico en el crecimiento de la raíz y biomasa total de plántulas de trigo*. Terra Latinoamericana, 33(1), 63-68.
- Universidad de Granada, F. d. (2002). *Quiored*. Obtenido de <http://www.ugr.es/~quioired/pnatu/terpenoides.htm>
- Urbaneja, A., Catalán, J., Tena, A., & Jacas, J. (agosto de 2018). *Gestión Integrada de Plagas y Enfermedades en Cítricos*. Obtenido de <http://gipcitricos.ivia.es/area/contacto>
- Vivanco, J., Cosio, E., Loyola-Vargas, V., & Flores, E. (2005). *Mecanismos químicos*. Investigación y Ciencia, 68-75.

- Vlot, A. C., Dempsey, D. M., & Klessig, D. F. (2009). *Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease*. Annual review of phytopathology, 47, 177-206.
- Vlot, A. C., Dempsey, D. M., & Klessig, D. F. (2009). *Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease*. Annual review of phytopathology, 47, 177-206.
- Wildermuth, M. C., Dewdney, J., Wu, G., & Ausubel, F. M. (2001). *Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence*. Nature, 4(63), p 562.
- Wink, M. (1999). *Biochemistry of plant secondary metabolism*. Annual plant reviews, 2, 374.
- Zavaleta-Mejía, E. (1999). *Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas*. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, 17(3), 201-207.
- Zeid, A. A. (2006). *Phenolics, volatiles and biological activities of Salix babylonica L. leaves and stem bark*. Planta Medica, 72(11), P_165.