



**Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Profesional de Biología con Mención en Biotecnología**

**Optimización de factores fisicoquímicos en el *Agave americana*  
para el aumento de saponinas con efecto antimicrobiano**

**Tesis**

Para optar el Título Profesional de Bióloga con Mención en Biotecnología

**Autoras**

Diana Selene Pacheco Espinoza

Lady Carolyn Yessenia Quito Jesus

**Asesor**

Dr. William Andres Guzmán Sánchez

Univ. Nacional José Faustino Sánchez Carrión  
FACULTAD DE CIENCIAS  
*William Andres Guzman Sanchez*  
Dr. William Andres Guzman Sanchez  
Secretario Principal COLABO N° 1253

**Huacho – Perú**

**2024**



**Reconocimiento - No Comercial – Sin Derivadas - Sin restricciones adicionales**

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

**Reconocimiento:** Debe otorgar el crédito correspondiente, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de ninguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso. **No Comercial:** No puede utilizar el material con fines comerciales. **Sin Derivadas:** Si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado. **Sin restricciones adicionales:** No puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros de hacer cualquier cosa que permita la licencia.



# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

## LICENCIADA

(Resolución de Consejo Directivo N° 012-2020-SUNEDU/CD de fecha 27/01/2020)

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología con Mención en Biotecnología

### INFORMACIÓN

DATOS DEL AUTOR (ES):		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	FECHA DE SUSTENTACIÓN
Lady Carolyn Yessenia Quito Jesus	72528152	05/11/2024
Diana Selene Pacheco Espinoza	70210397	05/11/2024
DATOS DEL ASESOR:		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	CÓDIGO ORCID
Dr. William Andrés Guzmán Sánchez	06015776	0000-0003-1424-4287
DATOS DE LOS MIEMBROS DE JURADOS – PREGRADO/POSGRADO-MAESTRÍA-DOCTORADO:		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	CÓDIGO ORCID
Msc. Eduardo Sigifredo Benites Requena	25664823	0000-0003-4764-1000
Blgo. Desiderio Elias Cotos Duran	07243334	0000-0001-7456-5379
Mo. Rocio del Carmen Romero Zuloeta	16689212	0000-0003-4456-9285

# Optimización de factores fisicoquímicos en el Agave americana para el aumento de saponinas con efecto antimicr...

 Quick Submit

 Quick Submit

 Facultad de Ciencias

## Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::1:3041539512

Fecha de entrega

14 oct 2024, 9:32 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

14 oct 2024, 9:40 a.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS\_DE\_PACHECO\_Y\_QUITO.pdf

Tamaño de archivo

3.7 MB

75 Páginas

13,797 Palabras

79,567 Caracteres



Página 2 of 83 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::1:3041539512

## 19% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Fuentes principales

18%  Fuentes de Internet

8%  Publicaciones

11%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

### Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi mamá Victoria Espinoza, por cada palabra de aliento que me das ahora y siempre, por tu perseverancia a que logre mis sueños, acompañándome como mi fiel amiga y a ti papá Walter Pacheco por enseñarme a ser fuerte y constante con mis metas, gracias a mis padres por estar presente en este recorrido de toda mi carrera profesional, por su paciencia y comprensión.

Para mis tres hermanos: Maycol, Johan y Jair por siempre apoyarme metas y enseñarme el significado de la frase “Todos para uno y uno para todos” del escritor Alejandro Dumas.

No me olvido de ustedes mis tías: Alicia y Julia que siguen apoyando con sus consejos y a tío Jorge por apoyarme en la búsqueda de cada muestra que pedían en el transcurso de mi carrera.

Diana Selene, Pacheco Espinoza

Dedico a Dios, esta tesis por darme fortaleza que necesitaba para continuar con mi carrera profesional.

En especial dedico este logro a mis padres Quito Suarez, Alberto y Jesus Díaz, Agueda, por sus consejos y su comprensión, por impulsarme a conseguir mis sueños y metas, gracias por siempre estar para mí. Finalmente, a mi Asesor ----- que siempre nos ayudó y aconsejo cuando lo necesitaba y a las personas que siempre me han ayudado, gracias por enseñarme a ser más fuerte para la vida.

Lady Carolyn Yessenia, Quito Jesus

## AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer a Dios por habernos guiado en nuestras carreras. Para nosotras que perseveramos hasta alcanzar nuestras metas, nuestra experiencia resumida en una frase “Recordemos que la investigación es una tarea en equipo”. Escrito por Daniel Cassany.

de igual manera, valoramos el papel de nuestro asesor el Dr. William Andrés, Guzmán Sánchez, quien nos ha guiado en todo el proceso de la investigación, corrigiendo nuestros errores, este es el resultado de largas horas de trabajo. Este proyecto de tesis se realizó en el Laboratorio multifuncional N°203 (SL01LA10) de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

Agradecemos el apoyo y orientación dada hacia nuestro tema de tesis al Ing. Edwin Macavilca Ticlayauri.

A los docentes de la Escuela Profesional de Biología con mención en Biotecnología, nuestro gratitud y reconocimiento por enseñarnos a explorar e incrementar nuestros conocimientos que nos brindaron a lo largo de nuestra carrera profesional.

También queremos mencionar a nuestros compañeros con los que aprendimos a descubrir que es la biología y las múltiples interrogantes que nos hacíamos cuando comenzamos la carrera, cuyas aventuras son innumerables de contar pero que siempre recordaremos con mucho cariño, fortaleciendo así nuestra amistad a pesar del paso del tiempo. Agradecemos por tu apoyo a nuestra amiga Blga. Cynthia Malú Dionicio De la cruz por sus consejos en este trabajo de tesis.

# INDICE

RESUMEN 13

ABSTRACT 14

INTRODUCCION..... 15

**Capítulo I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA ..... 16**

1.1 Descripción de la realidad problemática.....16

1.2 Formulación del problema.....17

1.2.1 Problema general ..... 17

1.2.2 Problema específico ..... 17

1.3 Objetivo de la investigación .....17

1.3.1 Objetivo general ..... 17

1.3.2 Objetivo específico ..... 18

1.4 Justificación de la investigación.....18

1.5 Delimitaciones del estudio .....19

**Capítulo II: MARCO TEORICO..... 20**

2.1 Antecedentes de la investigación .....20

2.1.1 Investigaciones internacionales ..... 20

2.1.2. Investigaciones nacionales..... 22

2.2 Bases teóricas .....23

2.2.1 Nomenclatura de *Agave americana*..... 23

2.2.2 Taxonomía ..... 24

2.2.3 Descripción botánica..... 24

2.2.4 Habidad y distribución ..... 25

2.2.5. Composición fotoquímica ..... 26

2.2.5.1. Saponinas..... 26

2.2.6. Parámetros fisicoquímicos ..... 28

2.2.6.1 Humedad ..... 28

2.2.6.2 Humedad relativa ..... 28

2.2.6.3 Estrés hídrico ..... 28

2.2.6.4 Temperatura ..... 28

2.2.6.5 Peso..... 29

2.2.7	Reacción a factores fisicoquímicos.....	29
2.2.8	Usos medicinales de las saponinas.....	29
2.3	Definición de términos básicos.....	30
2.4	Hipótesis de investigación.....	31
2.4.1	Hipótesis general.....	31
2.4.2	Hipótesis específicos.....	32
2.4.3	Operacionalización de variables e indicadores.....	32
<b>Capítulo III: METODOLOGIA .....</b>		<b>33</b>
3.1	Diseño metodológico.....	33
3.1.1	Tipo de investigación.....	33
3.1.2	Tipo de investigación.....	33
3.1.3	Diseño.....	33
3.1.4	Enfoque.....	33
3.2	Población y muestra.....	34
3.2.1.	Población.....	34
3.2.2.	Muestra.....	34
3.4	Técnicas e instrumento de recolección de datos.....	35
3.4.1	Técnicas a emplear.....	35
3.4.1.1	Identificación de la planta <i>Agave americana</i> . .....	35
3.4.1.2	Preparación del invernadero.....	35
3.4.1.3	Recolección de muestras de <i>Agave americana</i> . .....	35
3.4.1.4	Embolsado del sustrato.....	36
3.4.1.5	Cuantificación la biomasa y el volumen de producción de <i>Agave americana</i> (inicial).....	36
3.4.1.6	Siembra de <i>Agave americana</i> . .....	37
3.4.1.7	Aclimatación.....	37
3.4.1.8	Estreses fisicoquímicos.....	37
3.4.1.8.1	Durante 15 días.....	37
3.4.1.8.2	Durante 31 días.....	38
3.4.1.8.3	Grupo control.....	38
3.4.1.9	Observación de estomas.....	38

3.4.1.10	Cuantificación la biomasa y el volumen de producción de <i>Agave americana</i> . (Final) .....	39
3.4.1.11	Proceso de deshidratación.....	39
3.4.1.12	Prueba colorimétrica.....	40
3.4.1.12.1	Identificación de saponinas.....	40
3.4.1.13	Preparación de un macerado de hojas de <i>Agave americana</i> .....	40
3.4.1.14	Porcentaje de Rendimiento .....	41
3.4.1.15	Cuantificación de saponinas con Espectrofotometría UV visible. ...	41
3.4.1.16	Preparación de los discos de sensibilidad .....	41
3.4.1.17	Concentración inhibitoria mínima .....	41
3.5	Técnicas para el procesamiento de la información.....	42
<b>Capítulo IV: RESULTADOS .....</b>		<b>43</b>
4.1	Análisis de resultados .....	43
<b>Capítulo V: DISCUSION.....</b>		<b>50</b>
5.1	Discusión de resultados .....	50
<b>Capítulo VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>53</b>
6.1	Conclusiones .....	53
6.2	Recomendaciones .....	54
<b>REFERENCIAS.....</b>		<b>55</b>
7.1	Fuentes bibliograficas .....	55
7.2	Fuentes electrónicas .....	61
<b>ANEXOS .....</b>		<b>63</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del género <i>Agave L.</i> .....	24
<b>Tabla 2.</b> Optimización de factores fisicoquímicos en el <i>Agave americana</i> para el aumento de saponinas con efecto antimicrobiano. ....	33
<b>Tabla 3.</b> Peso inicial (g) y final (g) durante los días de estrés.....	46
<b>Tabla 4.</b> Resultados del peso promedio de las muestras recolectas al final del tratamiento de estrés. ....	46
<b>Tabla 5.</b> Contenido de humedad después del tratamiento de estrés y el control. ....	47
<b>Tabla 6.</b> Comparación de porcentaje de rendimiento en diferentes grupos de estrés.....	48
<b>Tabla 7.</b> Comparación de índice de espuma (cm) entre los diferentes grupos de estrés.....	48
<b>Tabla 8.</b> Resultados del test afrosimétrico del extracto de las hojas de <i>Agave americana</i> , la concentración de saponinas según el tiempo de durabilidad de la espuma.....	49
<b>Tabla 9.</b> Concentraciones de saponinas de hojas deshidratadas (molidas) y extracto de <i>Agave americana</i> . ....	49

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de ubicación geográfica.....	19
<b>Figura 2.</b> Planta de <i>Agave americana</i> L. ....	23
<b>Figura 3.</b> Planta de <i>Agave americana</i> L. en floración.....	25
<b>Figura 4.</b> Plantas de <i>agave americana</i> de los tres tratamientos: T1= 15 DIAS, T2= 31 DIAS, donde se observa temperatura alta y estrés hídrico controlado por un termohigrómetro, T3= CONTROL, no se realizó ningún tipo de estrés. ....	44
<b>Figura 5.</b> Ficha de observación de las estomas de la <i>agave americana</i> de grupo de estudio: temperatura alta y estrés hídrico durante 15 días y 31 días a temperatura alta (50-70 °C) y grupo control a temperatura ambiental. ....	45
<b>Figura 6.</b> Localización geográfica de estudio, centro poblado de Virunhuayra, se ubica en la región yunga a 2507 msnm del distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima. ....	64
<b>Figura 7.</b> Material biológico que se utilizó para la identificación morfológica como (hojas, flores) D y C, fotografía de la especie en el campo, A y B. estas fueron transportadas al Herbario de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL), para determinar la taxonomía de la especie.....	64
<b>Figura 8.</b> Se midió las plantas altura y el ancho de la hoja, para luego iniciar el sembrando 36 plantas de <i>agave americana</i> en bolsa de 7kg se agregaron sustratos como: el abono, arena y piedras pequeñas (1:1), llenaron hasta los bordes de la bolsa, imagen (F), se pesaron cada una de ellas imagen (G), registrándolas en la ficha. ....	65
<b>Figura 9.</b> En un balde se preparó enraizador este se diluido en agua, imagen (H), éstas se regaron en cada planta solo una vez, se empezó la aclimatación del <i>Agave americana</i> durante 31 días dentro del invernadero en temperatura ambiente, se regaron 1 vez por semana, imagen (I). ....	65
<b>Figura 10.</b> Se ordenaron en 6 filas por 6 columnas verticales de 36 plantas, se colocaron números para identificándolos, se utiliza un termohigrómetro para saber la temperatura ambiental en la cual se están adaptando las plantas, imagen (J). Se observó cambios en las plantas adaptas como hojas secas, imagen (K). Se recolectaron datos de la aclimatación en la Tabla 1: Ficha de registro de aclimatación de <i>agave americana</i> . ....	66
<b>Figura 11.</b> Después de la aclimatización las plantas son separadas en 3 grupos de 24 plantas, estos se estresaron 12 horas por día con ayuda de un calefactor eléctrico, se midió (temperatura alta, humedad relativa) con un termohigrómetro digital, se dejó de regar	

comenzando así el (estrés hídrico) durante 15 días y 31 días hasta culminar el estudio, imagen (L) y 12 en el grupo control temperatura ambiental y riego 1 vez a la semana. imagen (M). Se recolectaron datos en la Tabla 2: Ficha de registro de estrés fisicoquímico como la temperatura alta estrés hídrico. .... 66

**Figura 12.** Comparación de las hojas de *agave americana*, la hoja del grupo control se ve lisa, no sufrió ningún cambio físico, imagen (N), la hoja del grupo que ha sido estresado por temperatura alta y estrés hídrico durante 15 días y 31 días se ve rugosa, si hubo cambio físico, imagen (Ñ), se realizó cortes histológicos de *agave* para observar las estomas, imagen (O). se observan imágenes de estomas en los resultados. Se recolecto imágenes de las estomas en la Tabla 3: Ficha de registro de estomas *agave americana* del grupo de estudio de temperatura alta y estrés hídrico durante 15 y 31 días, entre temperatura de (50-70 °C) y control temperatura ambiente. .... 67

**Figura 13.** Se midió la altura y el ancho en las hojas de *agave* como se observa en la imagen (O), se pesaron los 3 grupos el de estrés de 15 y 31 días las hojas y el control en una balanza analítica, antes de ingresar a la estufa, imagen (P). .... 67

**Figura 14.** Después que las hojas salieran de la estufa, Se pesaron las hojas deshidratadas, imagen (Q), luego se utilizó una máquina de moler, imagen (R), las hojas deshidratadas se molieron hasta quedar polvo, imagen (S). Se recolectaron datos en la Tabla 4. .... 68

**Figura 15.** Se maceró en unas botellas a temperatura ambiente por 2 días las muestras de los grupos de 15 días , 31 días y control observado en la imagen (T), se utilizó un homogeneizador ultrasónico se colocó en un vaso el extracto de *agave americana* según la imagen (U), se colocó el extracto en el ultra probe sirve para romper las células así extraer componentes como los metabolitos secundarios (saponinas). .... 68

**Figura 16.** Para finalizar utilizamos un rotavapor en temperatura de 80 °C por 40 minutos nos permite extraer los compuestos del extracto etanólico destilando y condensando, evaporando el alcohol del extracto. Imagen (W). .... 69

**Figura 17.** Se midió en un vaso precipitado el extracto saponinas del grupo control, según la Imagen (X). .... 69

**Figura 18.** Se observa en las placas, los discos con extracto de saponinas de *agave* de los grupos de: 15 días, 31 días el control donde no presentaron actividad antimicrobiana, no se presencia halo según las Imágenes (Y) y (Z). .... 69

## RESUMEN

El *Agave americana* L. es conocida como una planta medicinal por producir metabolitos secundarios con actividad biológica en defensa de factores externos.

Se evalúa los efectos fisicoquímicos del *Agave americana* para el aumento o disminución de saponinas y se determinará que concentraciones de extracto etanólico del *Agave americana* tendrá actividad antimicrobiana.

Se emplearon 36 plantas de la edad de 1 año, se identificó por los rizomas, según Alonso (2004). En un sustrato de abono, arena y piedras pequeñas (1:1); se sembraron, luego se climatizaron por 31 días, se inició el estrés hídrico y temperatura alta de los grupos (15 y 31 días), comparándolo con el grupo control (no se estresaron). Las cuales fueron secadas y utilizadas para producir el extracto etanólico de los diferentes grupos de tratamiento, 15 días, 31 días y el control sobre la bacteria *E. coli* 132116. Para determinar la concentración de saponinas se realizaron pruebas cualitativas y cuantitativas.

Se indican cambios en la biomasa de los tratamientos de 15 días (0.3967) y 31 días (0.3592) a comparación al grupo control (0.5575) generado por el cierre de estomas evitando la pérdida de agua. La presencia de saponinas fue confirmada por la prueba de espuma donde el de 31 días (7 cm) fue el de mayor tamaño, y mayor concentración de saponinas en polvo (0.59 g) en comparación del obtenido por el extracto etanólico fue el de control la mayor cantidad (82.41 mg/ml), finalmente las concentraciones de extracto utilizadas de los grupos (15 días ,31 días y control), no tienen efecto antimicrobiano, ya que no se evidencio halo inhibitorio frente a la cepa de *E. coli* 132116.

Se concluyó que los factores fisicoquímicos si afectan el aumento de saponinas, pero no son suficiente, para una actividad inhibitoria frente la cepa de *E. coli*.

**PALABRAS CLAVE:** *Agave americana* / Saponinas / Metabolito/ Aclimatación / Macerado hidroalcohólico.

## ABSTRACT

*Agave americana* L. is known as a medicinal plant for producing secondary metabolites with biological activity in defence against external factors.

The physicochemical effects of *Agave americana* are evaluated for the increase or decrease of saponins and it will be determined which concentrations of ethanolic extract of *Agave americana* will have antimicrobial activity.

Thirty-six one-year-old plants were used, identified by their rhizomes, according to Alonso (2004). In a substrate of compost, sand and small stones (1:1); they were sown, then they were acclimatised for 31 days, the water stress and high temperature of the groups (15 and 31 days) was initiated, comparing it with the control group (not stressed). These were dried and used to produce the ethanolic extract of the different treatment groups, 15 days, 31 days and the control on *E. coli* 132116 bacteria. To determine the concentration of saponins, qualitative and quantitative tests were carried out.

Changes in the biomass of the 15-day (0.3967) and 31-day (0.3592) treatments are indicated in comparison to the control group (0.5575) generated by the closure of stomata preventing water loss. The presence of saponins was confirmed by the foam test where the 31 days (7 cm) was the largest, and the highest concentration of saponins in powder (0.59 g) compared to that obtained by the ethanolic extract, the control had the highest amount (82.41 mg/ml), finally the concentrations of extract used in the groups (15 days, 31 days and control), have no antimicrobial effect, since no inhibitory halo against the strain of *E. coli* 132116 was evidenced.

It was concluded that the physicochemical factors do affect the increase in saponins, but are not sufficient, for inhibitory activity against the *E. coli* strain.

**KEY WORDS:** *Agave americana* / Saponins / Metabolite / Acclimatisation / Hydroalcoholic macerate.

## INTRODUCCION

La *Agave americana* L. es una especie conocida en nuestro país como *agave*, maguey, cabuya, penca, etc. (Pino, 2006). En la búsqueda de nuevos tratamientos, la familia *Asparagaceae*, es una de la más estudiadas, donde según Pino. (2006) y Hammuel et al., (2011) “comprende entre 2480 especies”.

La cualidad de esta planta es que adaptara a condiciones climáticas desfavorables, en ecosistemas andinos como costeros, según Dávila, (2002) y García-Mendoza, (2007) “habita desde 800 msnm hasta 3700 msnm, con variados tiempos de temperaturas de 12°C hasta 30°C, ambientes de climas secos o periodos secos”. Una de sus cualidades más resaltantes es ser una planta suculenta, que se caracteriza por la acumulación de agua en sus tejidos en respuesta a la transpiración en esos ambientes. Es por eso que según Eguiarte & Souza, (2007), “*Agave americana* tiene alta resistencia a factores físicos extremos”.

Actualmente, se considera una planta medicinal, no se ha realizado muchas investigaciones en nuestro país, sabiendo que estas producen metabolitos secundarios como terpenos, flavonoides, saponinas, esteroides, taninos y otros, que podrían tener uso farmacológico.

Por ello, se emplea biotecnología vegetal, utilizando dos factores que ocasionan estrés como la temperatura alta y estrés hídrico se midió con un termohigrómetro, el estrés del *agave* de 1 año, identificado por tener rizomas, para saber si hay efectos externos que puedan aumentar la elaboración de saponinas, la metodología que se utilizó para la cuantificación de saponinas es espectrofotometría UV visible.

En nuestro trabajo de investigación se desea producir metabolitos secundarios, considerando evaluar el efecto fisicoquímico en el *Agave americana* en el aumento de saponinas.

## Capítulo I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción de la realidad problemática

Nos explica Guillermo Pino I. (2006) en el Perú “no hay especies nativas, pero si asilvestradas, de la especie *Agave americana* L. *ssp. americana* var., generalmente en cercanías de centros poblados”. En el transcurso de la historia estas plantas se han utilizado para diferentes medios, utilizando desde sus fibras hasta el agua extraída por el remojo de ellas, donde se han reportado según Olano (1999) “como insecticida, antiparasitaria y también como molusquicida”.

Según el estado peruano (2002) “el parque de las leyendas cuenta con una colección de Angiospermas de *Agaves* como: “Maguey azul de México” *Agave americana* L., “*Agave* de tequila” *Agave tequilana*”. y “Cabuya azul del Perú” *Agave cordillerensis* Lodé & Pino. Recolectadas de diferentes lugares del mundo.

En nuestro país existe variedad de género *Agave*, conocido comúnmente como “maguey” y en otros países como “aguamiel”. En ciertos centros poblados según Rivera R. (2016) “se ha domesticado y ahora se cultiva *Agave americana*, por sus beneficios como: alimento, uso medicinal, uso ambiental y obtención de materiales”.

A lo largo de la historia se ha utilizado el *Agave americana* en el país para diferentes medios e incluso recientemente se ha comenzado a industrializar el aguamiel en el Perú. sin embargo, hay pocos estudios que respalden su composición, propiedades o aplicaciones de la especie. A pesar que su uso medicinal es ampliamente conocido no hay investigaciones a su actividad biológica y otras propiedades.

Actualmente según Fowler MW., (2006) “Los fármacos derivan directa e indirecta de las plantas un 25%, lamentablemente sus concentraciones son muy bajas para usarlas como materia prima, nos dice Ramachandra Rao S, (2002) p.101-53. En los últimos años

se han realizado investigaciones de diferentes sustancias naturales o minerales que se aplican a la planta para evitar daños producidos por las plagas, enfermedades o factores abióticos, nos dice Zobayed SMA & otros (2007). Se han obteniendo muy buenos resultados en el aumento de estos metabolitos. En nuestro estudio en el *Agave americana*, se evaluará los efectos de factores fisicoquímicos (estrés hídrico y temperatura alta), se han encontrado muy pocos estudiados realizados, que determinen la influencia en el aumento de metabolitos secundarios llamadas saponinas.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

- ✓ ¿Tendrá efecto los factores fisicoquímicos del *Agave americana* en el aumento de saponinas?

### **1.2.2 Problema específico**

- ✓ ¿Cuál es el efecto fisicoquímico de los diferentes tipos de estrés: estrés hídrico y temperatura alta en el *Agave americana*?
- ✓ ¿Qué cantidad mínimo y máximo de saponinas en el *Agave americana* se alcanzará durante 15 días y 31 días de efecto de exposición a los factores fisicoquímicos de estrés: estrés hídrico y temperatura alta?
- ✓ ¿Cuál es el efecto antimicrobiano de las saponinas en los diferentes tratamientos?

## **1.3 Objetivo de la investigación**

### **1.3.1 Objetivo general**

- ✓ Evaluar el efecto fisicoquímico del *Agave americana* en el aumento de saponinas.

### **1.3.2 Objetivo específico**

- ✓ Determinar el efecto fisicoquímico de los diferentes tipos de estrés: estrés hídrico y temperatura alta en el *Agave americana*.
- ✓ Identificar la cantidad mínimo y máximo de saponinas en el *Agave americana* se alcanzará durante 15 días y 31 días de efecto de exposición de los factores fisicoquímicos de estrés: estrés hídrico y temperatura alta.
- ✓ Evaluar el efecto antimicrobiano de las saponinas en los diferentes tratamientos.

### **1.4 Justificación de la investigación**

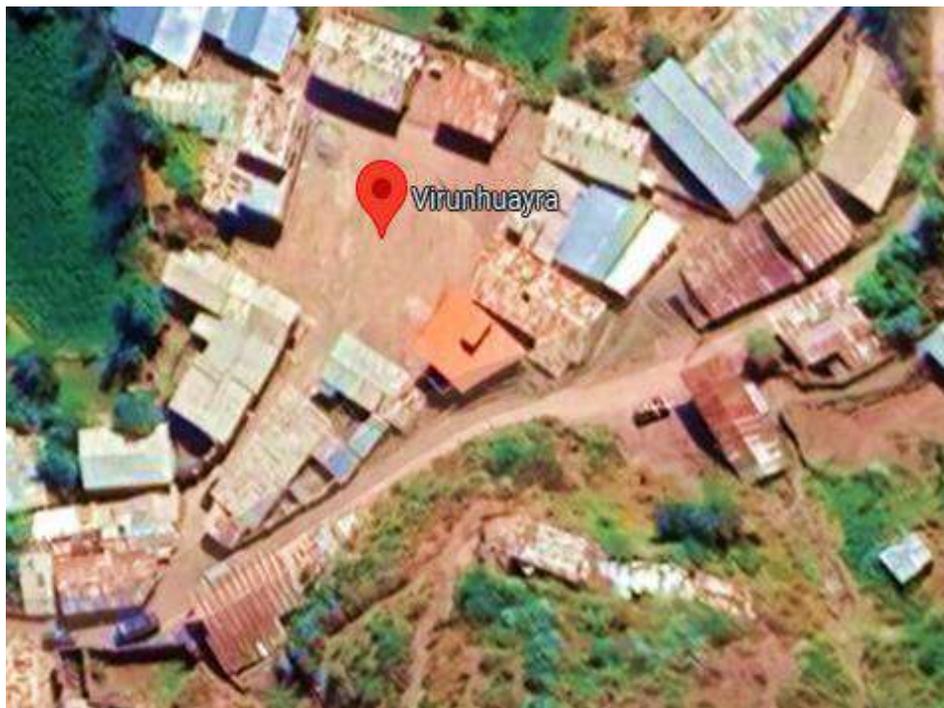
Hoy en día en el país y el mundo, se cultiva *Agave americana L.*, la parte que se utiliza es el centro de la planta que se denomina piña para realizar bebidas alcohólicas y otros, dejando las hojas como residuos, no sabiendo que producir con ellas. El *Agave* tiene importancia de interés científico, social, económico y ambiental. En esta investigación incidimos en sí, los factores externos inducen el incremento de saponinas, utilizando las hojas y dándole valor, no habiéndose encontrado investigaciones de antecedentes a nivel nacional e internacional. El fin deducir si el, estrés hídrico y temperatura alta, aumentan o disminuyen las saponinas de las hojas del *agave*. La saponina es un metabolito secundario importante como alternativa antimicrobiana, se experimenta utilizando las hojas como extracto en diferentes concentraciones y averiguar si estos, tendrán efecto sobre el crecimiento microbiano.

Actualmente en el Perú, existe esta problemática de resistencia microbiana, sin embargo, el principio activo encontrado en la especie *Agave americana* se encuentra una alternativa como medicina tradicional. Esta especie estudiada crece en la parte de la región sierra y dando utilidad a sus hojas se obtiene principio activo como antimicrobiano.

## 1.5 Delimitaciones del estudio

Esta tesis se elaboró en el Laboratorio multifuncional N°203 (SL01LA10), se utilizó las instalaciones de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión – distrito de Huacho, asimismo, el laboratorio SLab Perú – Lima, donde se analizarán diversas muestras.

Las muestras de *Agave americana* se obtendrán del centro poblado de Virunhuayra sus coordenadas son: Latitud Sur  $10^{\circ} 36' 24.6''$ , Longitud Oeste  $77^{\circ} 5' 6.6''$  a 2 507 msnm. Está ubicado el distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima. Se recolecto 36 muestras *Agave americana*, se aclimataron durante de 31 días, siendo sometidas a diferentes efectos fisicoquímicos como (estrés hídrico, temperatura alta, humedad relativa y peso) durante 15 días y 31 días con el propósito de aumento de saponinas.



**Figura 1.** Mapa de ubicación geográfica.

Fuente: (Google mapas, 2024).

## Capítulo II: MARCO TEORICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1 Investigaciones internacionales

Shegute (2020) Evaluó la actividad antibacteriana y componentes fitoquímicos de extracto de hoja de *Agave americana*, contra *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, especies de *Salmonella* y *Escherichia coli*. Los extractos crudos macerados y Soxhlet de *Agave americana* añadieron partes de éter de petróleo, cloroformo, acetona y metanol. Se usó dos tipos de métodos como: difusión en pozo y difusión de disco. Resultados se identificaron los fitoquímicos como: alcaloides, saponinas, taninos, polifenoles y flavonoides.

Concluyendo que las fracción cruda y solvente de *A. americana* tienen una actividad antibacteriana y (CIM) en 2,5 mg mL, en *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *S. typhi* cepas, 10 mg mL en cepas de *E. coli* y *S.*

Ramirez T., & otros (2014), nos explica que las respuestas bioquímicas y fisiológicas del Agave por restricción de humedad durante 14 meses en ocho especies; es la disminución de biomasa en las hojas, que varía dependiendo de la especie que se adaptaron a la restricción de humedad. Hubo un aumento de prolamina radicular solamente en el subgénero *Agave*, pero no en *Littaea*.

Concluyendo, las plantas jóvenes pueden sobrevivir hasta 14 meses en condiciones extremas.

Casierra P. & otros (2006), evaluaron las especies de Furcracea sp. Vent. Cultivadas con NaCl, para determinar las respuestas fisiológicas a la salinidad durante cinco meses. Se utilizaron plantas a las que se agregaron 20, 40, 60 y 80 mmoles de NaCl, un grupo de

control que no trataron con sal y estas fueron regadas dos veces por semana. Como resultado se obtuvo que la salinidad disminuyó la materia seca y poco efecto en la evapotranspiración.

Concluyendo que la salinidad genera un cambio en el reparto en materia seca de la planta, los tallos, las hojas, la raíz la más afectada a medida que aumenta la salinidad en el sustrato.

García M. & otros (2022), compararon el contenido de saponinas esteroidales en hojas de cinco especies de *Agave* de tres diferentes regiones. Se utilizó la cromatografía de gases con detección de ionización en los extractos metanólicos hidrolizados, donde se obtuvo como resultado que la especie de *Agave americana* var. De la región de Oaxaca tenía la mayor cantidad de diosgenina en comparación a los demás y la *A. angustifolia* Haw de la región Guerrero tiene el contenido de tigogenina más alta.

Concluyendo que el contenido de saponinas esteroidales derivadas identificadas por diferentes regiones podría deberse por el lugar de recolección sus diferentes concentraciones.

Moreta E. (2020), evaluó los extractos de las hojas de *agave americana* las distintas edades 1,3 y 8 años como insecticida. utilizó HPLC, para determinar la concentración de saponinas, una confirmación mediante el índice de espuma y afro simetría. Además, se evaluó la actividad insecticida del *Trialeurodes* sp. con extractos metanólicos en diferentes concentraciones (250, 500 y 750 ppm).

Resultado que la mayor concentración de saponinas (44,13 mg/g extracto), el porcentaje de mortalidad más alto (59.81%) de la concentración de 750 ppm corresponde al extracto metanólico de 8 años. Concluyendo que entre más tiempo tenga la planta mayor concentración de saponinas tendrá.

### 2.1.2. Investigaciones nacionales

Gutiérrez (2015), nos explica que el extracto etanólico de raíces y hojas de *Agave americana* sobre *Moniliophthora roreri*. Se recolectó el *Agave americana*, mientras que la cepa *Moniliophthora roreri*, se aisló la mazorca de cacao infectada de “monilia”. Se utilizó concentración del 5%, 10%, 20% y 30% de extracto de raíces y hojas, para el control cupravit (fungicida comercial).

Resultado es 300 mg/mL, 320 mg/mL, 420 mg/mL. En los análisis fitoquímicos se encontraron: cumarinas, alcaloides, triterpenos, saponinas, fenoles, esteroides, quinonas, azúcares reductores, taninos, aminoácidos libres, flavonoides.

Cóndor (2018), analizó el efecto del extracto de *Agave americana* contra *Streptococcus spp.* de linfadenitis en *Cavia porcellus*. Se evaluó los distintos tratamientos: T1 (2 mg/mL), T2 (5mg/mL) y T3 (7mg/mL), T4 (Penicilina 10 ug), extracto (*Agave americana*) sobre *Streptococcus spp.* Se obtuvo una efectividad antimicrobiana T1 (6.4 mm), T2 (10.4 mm), T3 (14.4 mm) y T4 (18.6 mm), diferencia significativa  $p \leq 0.05$  determinado por ANOVA, comprobando la prueba de Tukey.

Resultando T3 (7 mg/mL) contra el *Streptococcus spp.* tiene mayor efecto antibacteriano.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Nomenclatura de *Agave americana*

Es una especie que se adapta rápido por su morfología, reproductiva, su estructura, genética, su tolerancia ecológica y su relación biótica con otros polinizadores. según León (2013).

En el año 1748, Carlos Linneo parte del vocablo griego *Agavos*, su significado es, algo grande, noble o admirable, ilustre y estableció Hortus Upsalensis el género *Agave* basándose en la morfología de planta. nos menciona Jacques-Hernández & Salazar (2009).



**Figura 2.** Planta de *Agave americana* L.  
Fuente: (Propia, 2024).

### 2.2.2 Taxonomía

**Tabla 1.** Clasificación Taxonómica del género *Agave L.*

La clasificación filogenética a nivel molecular de la taxonomía de la especie según el sistema APG IV (Angiosperm Phylogeny Group) es la siguiente:

<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Asparagales
Familia	Asparagaceae
Género	<i>Agave L.</i>
Especie	<i>Agave americana L.</i>

**Fuente:** Angiosperm Phylogeny Group (2016)

### 2.2.3 Descripción botánica

Esta planta de *Agave* es de fácil adapta ecosistemas desfavorables y perenne tiene hojas en forma de roseta, estas varían de tamaño forma la base de las hojas y punto de crecimiento, es la más alta del tallo, las hojas nuevas salen debajo del cogollo, las hojas son fibrosas, suculentas y lanceolada (en forma de lanza), lo forma una espina terminal, donde los bordes tienen espinas. puede ser pequeños (algunos centímetros) o grandes (dos metros hasta cuatro metros), La característica es que tiene raíz superficial, facilitando absorción del agua, la supervivencia de la planta en sequias depende del agua almacenada esta mantiene las reacciones bioquímicas y estomas abiertos para absorción de (CO<sub>2</sub>) y los carbohidratos que almaceno durante la etapa favorable. Nos dice García (2007).

Son semileñosas, tienen una inflorescencia en forma de espiga donde crecen las flores. La florescencia acontece sólo una vez, se da entre los 5 y los 20 años. Según Hernández (2009).



**Figura 3.** Planta de *Agave americana* L. en floración.  
Fuente: (Propia,2024).

#### **2.2.4 Hábitat y distribución**

Es una planta endémica del continente americano, se localiza al sur de Canadá. Nos dice Hernández (2009), Como también por México, Estados Unidos, América Central y Sudamérica. Existen 300 especies de *Agaves*. Según Eguiarte & Sousa (2007). El género *Agavaceae* su origen es Mesoamérica, siendo domesticada para el uso agrícola. Nos cuenta Gentry (2007). En la actualidad esta especie es de interés industrial, importante en países como Bolivia, Perú, Colombia Chile, entre otros países. Según Velázquez, Maldonado y Solano (2010).

## **2.2.5. Composición fotoquímica**

### **2.2.5.1. Saponinas**

El *Agave americana* contiene metabolitos secundarios, como: saponinas, glucósidos, triterpenos, esteroides con una serie de bioactividades como propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antimicrobianas, etc. Según Lacaille-Dubois y Wagner (1996), Güçlü-Ustündağ y Mazza (2007). Son moléculas complejas que constan de agliconas no azucaradas (sapogenina) acopladas a unidades de cadena de azúcar. Las saponinas se pueden clasificar según la naturaleza de su esqueleto de agliconas en saponinas esteroides, triterpenoides y glicoalcaloides, nos dice Bernards, Ivanov, Neculai y Nicol (2011). La extracción de estos compuestos se realiza frecuentemente con metanol, y su fracción y purificación normalmente se lleva a cabo con cromatografía en capa fina (TLC) nos habla Cheok et al., (2014), Sahu et al. (2008). Se puede mencionar a otros metabolitos secundarios que están presentes y son:

#### **a) Alcaloides**

Son compuestos heterocíclicos nitrogenados proviene de aminoácidos. Se encuentra en la naturaleza como sales, málico, ácido acético, tartárico, láctico, oxálico, cítrico. Según Acosta (2008).

#### **b) Taninos**

Son polifenólicos, complejos de origen vegetal, masa molecular alta, su propiedad es curtir la piel y convertirlo en cuero. Nos dice Carretero M. (2000).

### **c) Antraquinonas**

Son compuestos secundarios frecuentes entre el grupo de las quininas vegetales, nos dice Sánchez V. & Santa J. (2009). Encontrados en bacterias, hongos, líquenes y plantas superiores según Borroto B. J. & otros (2005).

### **d) Compuestos fenólicos**

Es un grupo muy diverso se caracteriza por tener grupos hidroxilo, reacción acida, conformando un anillo aromático. Según Bowsher et al. (2008).

### **e) Flavonoides**

Son pigmentos de origen vegetal que se protegen del daño por agentes oxidantes. Como las sustancias químicas de los alimentos, rayos ultravioletas y otros. Nos dice Martínez & otros (2002).

### **f) Terpenoides**

Son metabolitos secundarios lo conforman 5 átomos de carbono o unidades de “isopreno” y se conocen como isoprenoides. Según Pérez I. (2013-2014).

### **g) Esteroides**

Son metabolitos secundarios se llaman brasinoesteroides, controlan el desarrollo de las plantas induciendo al crecimiento celular.

### **h) Flbotaninos**

Es un conocido de medicamento utilizado para incrementar el tono venoso y disminuir la permeabilidad capilar. Nos dice Ramos C. & Otros (2017).

## **2.2.6. Parámetros fisicoquímicos**

### **2.2.6.1 Humedad**

La propiedad que define el vapor de agua presente en gas, se expresa varias magnitudes. Según Martines (2007). Las plantas consiguen oxígeno del aire por medio de las estomas. El suelo debe tener una buena porosidad, para así promover la oxigenación de las raíces. Nos dice Martínez (1994).

### **2.2.6.2 Humedad relativa**

El nexo entre presión de vapor de agua.

### **2.2.6.3 Estrés hídrico**

Es la causa de muerte en plantas, la raíz absorbe exceso de agua o por baja cantidad de agua. En las noches la pérdida de agua es menor en climas secos o semisecos, las temperaturas nocturnas son desde 20 a 30 °C. según Nobel (2011). Es por eso que las plantas pierden cantidades menores de agua. Estas propiedades favorecen a lugares donde existe escasez de agua y temperatura elevada. Nos dice Ramírez (2014).

Se contraen las raíces en baja cantidad de agua. Esto permite el almacenamiento de agua en tiempos de sequía. Nos habla Blunden et al. (1973). Para la supervivencia en condiciones extremas.

Según Ruiz, G., y otros (2007) el maguey estuvo sin riego durante 31 días, puede aumentar su biomasa de raíz y longitud de hojas (100 y 17%, respectivamente).

### **2.2.6.4 Temperatura**

Es una magnitud se expresa en grado de calor y frío de un cuerpo. Según Rodríguez (2016).

#### **2.2.6.5 Peso**

La utilización del área foliar como variable en estudios de daños por enfermedades, se evalúa la relación de peso fresco y seco con el área foliar en plantas. Según Garcés (2011).

#### **2.2.7 Reacción a factores fisicoquímicos**

Las plantas de *Agave* están frecuentemente expuestas a una amplia gama de estreses, como sequía, temperaturas extremas, sal, estrés oxidativo y toxicidad por metales pesados nos dice Jaleel et al., (2009). La sequía disminuye el crecimiento y afecta procesos fisiológicos y bioquímicos como: respiración, la fotosíntesis, los carbohidratos, el metabolismo de nutrientes y el metabolismo secundario. Según Jaleel et al., (2009). Se ha demostrado que el déficit de agua altera la acumulación de metabolitos secundarios según Marchese et al., (2010). Los Estudios de *Agave amaniensis* han reportado un aumento del contenido de saponinas en presencia de metales pesados. Según Andrijany et al. (1999), mientras que el estrés hídrico en cultivos in vitro de *Agave tequilana* modificó drásticamente el contenido de fructanos. Nos dice Barreto et al. (2010). Las plantas de *Agave* no responden de la misma manera al estrés hídrico en condiciones in vitro. Recientemente, el *Agave salmiana* ha sido propuesta como modelo para estudiar los cambios fisiológicos y fisicoquímicos involucrados en tolerancia a sequía y capacidad de plantas para sobrevivir en condiciones adversas. Según Peña & Sánchez (2009).

#### **2.2.8 Uso medicinal de la saponina**

Las saponinas se han encontrado útiles para muchos propósitos; además de ayudar a las plantas contra los ataques de insectos, también exhiben propiedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, antiinflamatorias, antiobesidad, hipocolesterolémicas, inmunoestimulantes y antiparasitarias. Nos habla Leal., A., et al. (2015), Augustin et al. (2011). En la industria farmacéutica, las saponinas esteroideas son importantes debido a

su transformación en derivados farmacéuticamente valiosos, como corticosteroides, hormonas sexuales y diuréticos esteroides. Según Santos y Branco (2014). En China, principal productor de esteroides del mundo, utiliza especies de *Dioscorea*, *Agave americana* L. y *Agave dong 1*, para extraer saponinas. Nos dice Yanyong y Yue (2015). También se han reportado saponinas similares en el “aguamiel” de *Agave salmiana*. Nos habla Leal et al. (2015). Desde un punto de vista nutracéutico, varios informes han identificado altos niveles de fitoquímicos bioactivos en los subproductos/productos finales del *agave*, que se han asociado con sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antidiabéticas. Según Hamissa et al., (2012), Chirinos et al., (2013), Ahumada-Santos et al. (2013), Barriada-Bernal et al. (2014).

### **2.3 Definición de términos básicos**

**Agave americana:** Una familia *Agaváceae* comprende 2480 especies, denominada como: maguey, cabuya, pita entre otros. Según Córdor (2018).

**Aclimatación:** Las plantas se colocan en un invernadero, esta proporciona el inicio de la humedad relativa, radiación solar, condiciones ambientales favorables para su adaptación en cambios morfológicos y fisiológicos. Nos dice Alvarez (2012).

**Sustratos:** Las funciones del sustrato es de retener el agua hasta el momento de ser usada por la plántula. Según Iglesias (1994).

**Metabolito:** las plantas realizan metabolismo, es un proceso químico que produce metabolitos primarios y secundarios. Datos de NCI (2022).

**Saponinas:** El reino vegetal producen metabolitos secundarios. Su función protección contra herbívoros y patógenos. Según Cheok et al. (2014); Juang y Liang (2020). La capacidad que tiene la saponina es generar espuma similar al jabón.

**Espectrofotometría UV-visible:** Esta técnica permite a las moléculas absorban radiaciones electromagnéticas y la cantidad de luz absorbida. Según Nieves et al. (2020).

**Macerado hidroalcohólico:** Consiste en mojar en alcohol para extraer principios activos. Nos dice Velada (2022).

**Antimicrobiano:** consiste en impedir el crecimiento microbiano. Datos de NCI (2022).

**Halo de inhibición:** Es la zona que inhibe el crecimiento bacteriano, que rodea al disco de un antibiótico. Datos de CBTis (2022).

**Prueba de sensibilidad:** Conocida como antibiograma, permite la sensibilidad en los microorganismos frente a diferentes antimicrobianos. Según Vázquez (2020).

**Método de difusión en disco:** Esta prueba conocida como Kirby-Bauer; se emplean discos de sensibilidad, estas se colocan dentro de las placas sembradas con microorganismo. Según Vázquez (2020).

**Disco de sensibilidad:** Son pequeños círculos de papel filtro, estas se impregnan antibióticos, se utiliza para la prueba de difusión. Según Espinoza y Serna (2018).

**Concentración mínima bactericida (CMB):** no hay crecimiento de bacteriano durante 24 horas de incubación a 37 °C. nos dice Andrews (2001).

## 2.4 Hipótesis de investigación

### 2.4.1 Hipótesis general

- ✓ Los efectos fisicoquímicos en el *Agave americana* aumentaran las concentraciones de saponinas.

### 2.4.2 Hipótesis específicos

- ✓ El efecto fisicoquímico de los diferentes tipos de estrés: estrés hídrico, temperatura alta en el *Agave americana* aumentaran las concentraciones de saponinas.
- ✓ El aumento mínimo y máximo de las saponinas en el *Agave americana* se alcanzará durante 15 días y 31 días por efecto de la exposición a los factores fisicoquímicos de estrés: estrés hídrico, temperatura alta.
- ✓ Los efectos antimicrobianos de las saponinas de los diferentes tratamientos

### 2.4.3 Operacionalización de variables e indicadores

**Tabla 2.** Optimización de factores fisicoquímicos en el *Agave americana* para el aumento de saponinas con efecto antimicrobiano.

VARIABLE	DIMENSION	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<b>Variable independiente:</b> Efecto de los Factores fisicoquímicos del <i>Agave americana</i> .	Factores fisicoquímicos	Estrés hídrico Temperatura alta	Saponinas% Peso (gr) Humedad relativa
<b>Variable dependiente:</b> Aumento de saponinas con efecto antimicrobiano	Saponinas	Diferentes Tratamientos 15 días 31 días Control	Concentración mínima inhibidora µg/ml S (Sensible) I (Intermedia) R (Resistente)

## **Capítulo III: METODOLOGIA**

### **3.1 Diseño metodológico**

#### **3.1.1 Tipo de investigación**

Investigación aplicada, busca hallar nuevas soluciones a partir de una investigación básica. Basado en el aumento de “saponinas” en la planta *Agave americana* al ser sometidos a diferentes tipos de estrés. Para uso antimicrobiano.

#### **3.1.2 Tipo de investigación**

Investigación explicativa, conforman dos variables independiente y dependiente, donde se explicará relación de causa y efecto sobre *Agave americana* en el aumento de saponinas.

#### **3.1.3 Diseño**

Es un estudio experimental aleatorizado, con 2 tratamiento durante un tiempo de 15 días y 31 días con un control por triplicado con diferentes factores fisicoquímico (Temperatura, estrés hídrico, humedad relativa y peso) con un total de población de 36 plantas.

#### **3.1.4 Enfoque**

Según la investigación cualitativa, ya que se hará el uso de Espectrofotometría UV visible (Cuantificación de saponinas) la hipótesis se basa en números y datos estadísticos para así comprobar teoría.

## 3.2 Población y muestra

### 3.2.1. Población

Las 36 plantas, tiene 3 grupos de 12 plantas, formarán los tres tratamientos: de 15 días, 31 días y con un control, las muestras serán recolectadas del pueblo de Virunhuayra, distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima.

### 3.2.2. Muestra

Las muestras conseguidas para este tipo de estudio un total de 36 plantas de *Agave americana*, no debe tener sin signos de plagas, ni hojuelas secas, así quedando las mejores, provenientes del centro poblado de Virunhuayra sus coordenadas (Latitud Sur 10° 36' 24.6", Longitud Oeste 77° 5' 6.6"), 2 507 msnm; se ubica el distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima. Con ello se determinará el análisis estadístico en la siguientes formula.

$$n = \frac{Z^2 PQ}{d^2}$$

Donde:

$$Z = 1.96 (\alpha = 0.05)$$

$$P = 0.50$$

$$Q = 0.50$$

$$d = 0.10$$

Por tanto:  $n = 36$  evaluaciones

### **3.4 Técnica e instrumento de recolección de datos**

#### **3.4.1 Técnica a emplear**

##### ***3.4.1.1 Identificación de la planta *Agave americana*.***

En esta investigación lo primero fue la identificación y determinación taxonómica según sus características morfológicas de orden cualitativo y cuantitativo como (hojas, flores, frutos y semilla), se completó con imágenes fotográficas de la especie en campo, se estudió en el Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL), que concluyo que sí, corresponde a la especie *Agave americana* L.

##### ***3.4.1.2 Preparación del invernadero***

Se construyó un invernadero de 6m de largo que se cubrieron con malla raschel, que se colocaron en las paredes, que tienen una capacidad de retención solar de 60%. Además, se agregó una malla raschel transparente de 3m de ancho en la parte superior para mayor iluminación.

Se construyó al costado del invernadero, en un espacio de 4 metros de largo por 2 de ancho donde se colocaron postes de madera de 1m de altura y rodearon con un cable de 4 metros, donde se evaluó al grupo control.

##### ***3.4.1.3 Recolección de muestras de *Agave americana*.***

La especie *Agave americana* se colectaron 36 plantas, se determinó la edad de 1 año por la presencia de pequeños rizomas. Según Alonso (2004). Además, no debe haber signos de plagas, ni hojuelas secas, así quedarán los mejores *Agaves*, se obtuvo del centro poblado de Virunhuayra las coordenadas son las siguientes: Latitud Sur 10° 36' 24.6",

Longitud Oeste 77° 5' 6.6" a 2 507 msnm. Se ubicó en 176 kilómetros de la ciudad de Huacho.

#### **3.4.1.4 Embolsado del sustrato**

Se utilizaron 36 bolsas para almácigos (polietileno de baja densidad con perforaciones) de 7kg, se prepararon sustratos como: el abono, arena y piedras pequeñas (1:1), se mezclaron y se llenaron en las bolsas de forma manual para su primordial compactación, las bolsas se debieron llenar hasta los centímetros del borde (Pimentel,1971: Davey,1984), para finalizar se utilizó una balanza para verificar el peso. Además, el género *Agave* presenta tolerancia de pH de 6.0 a 8.0, según FAO (1994).

#### **3.4.1.5 Cuantificación la biomasa y el volumen de producción de *Agave americana* (inicial).**

Se calculó la biomasa de cada una de las 36 plantas que son de la edad de 1 año, se registró el número de hojas, el largo, el ancho, el volumen total de la biomasa.

##### **1) Número de hojas**

Se contaron y enumeraron las hojas de cada planta que se sembraron en tiempos de aclimatización y se registró en las fichas. Según Ramírez (2014).

##### **2) Ancho de la hoja**

La parte intermedia de la hoja se midió el ancho. Los datos se ingresaron en la ficha de registro. Según Ramírez (2014).

##### **3) Longitud de las hojas**

Con una cinta métrica, se midió las hojas más altas desde la espina terminal hasta el extremo final de la hoja. Los datos se ingresaron en la ficha de registro. Según Ramírez (2014).

#### **3.4.1.6 Siembra de *Agave americana*.**

Se sembró *Agave americana* en 36 bolsas de 7kg aproximadamente, se llenaron hasta los centímetros del borde de la bolsa, también se agregaron en un balde enraizador diluido con agua a cada planta, se regó 500 ml de este, solo una vez.

#### **3.4.1.7 Aclimatación**

El *Agave americana* se ordenaron en 6 filas por 6 columnas verticales de 36 plantas, se colocaron números para identificándolos más rápido, se utilizó una ficha de registro de aclimatación de *Agave americana* donde se llenaron los datos como (número, número de hojas, peso, largo, ancho y fecha) durante el tiempo de adaptación que fue de 31 días dentro del invernadero con parámetros de temperatura de 25 °C, humedad de 50 % y se regaron 1 vez por semana.

#### **3.4.1.8 Estréses fisicoquímicos**

Después de la aclimatización las plantas son separadas en 3 grupos (24 el grupo de estrés y 12 el grupo control). Se comenzó a estresar al *Agave americana* por 12 horas del día, con ayuda de un calefactor eléctrico, se midió (temperatura alta, humedad relativa) con un termohigrómetro digital, se dejó de regar comenzando así el (estrés hídrico) hasta culminar el estudio. Para obtener datos se utilizó la ficha de registro, temperatura alta y estrés hídrico donde se colocaron los datos como (número, grupo de estudio, número de hojas, peso, largo, ancho, temperatura, humedad y fecha).

##### **3.4.1.8.1 Durante 15 días.**

Las plantas son sometidas a estrés hídrico y temperatura alta (40 + 2 °C), luego se pesaron 4 veces por semana, se observaron si hay algún cambio físico en la hoja, se utilizó la ficha de registro de temperatura alta y estrés hídrico, llegando a la fecha indicada se

recolectaron las muestras aleatoriamente, utilizando la última ficha de registro del estudio.

#### **3.4.1.8.2 Durante 31 días.**

Las plantas son sometidas 15 días más en estrés hídrico y temperatura alta, luego se pesaron 16 veces el total de los 31 días, se observaron si hay algún cambio físico en la hoja, se utilizó la ficha de registro de temperatura alta y estrés hídrico, llegando a la fecha indicada se recolectaron las muestras aleatoriamente, utilizando la última ficha de registro del estudio.

#### **3.4.1.8.3 Grupo control.**

Las plantas se encontraron en temperatura ambiente y se regaron 1 vez por semana, luego se observaron si hay algún cambio físico en las hojas, llegando a la fecha indicada se recolectaron las muestras aleatoriamente, utilizando la última ficha de registro del estudio.

#### **3.4.1.9 Observación de estomas**

Por cada término del proceso de cada grupo, las hojas son recolectadas para luego realizar cortes histológicos donde se observaron las estomas de los grupos de estrés de 15 días, 31 días y de grupo control. Se utilizó la Ficha de registro de estomas *Agave americana* del grupo de estudio: control, 15 días y 31 días (temperatura alta y estrés hídrico) donde se observó en imágenes las estomas (abiertos o cerrados) según sea el grupo. Después se realizó la comparación de los grupos de estrés sometidos.

#### **3.4.1.10    *Cuantificación la biomasa y el volumen de producción de Agave americana. (Final)***

Se calculó la biomasa de plantas seleccionadas de los grupos (15 días, 31 días y control) se utilizó la ficha donde se registró; número de planta, grupo de estudio, número de hoja, peso (kg) total de la planta (raíz, tallo, hoja) biomasa, peso de las hojas (kg), temperatura de estufa, peso de materia seca (gr), peso molido (gr).

##### **A. Peso de las hojas**

En una balanza analítica se pesó la cantidad de masa de todas las hojas de cada planta. Los datos se ingresaron en la ficha. Según Ramírez (2014).

##### **B. Peso total de la planta (Biomasa)**

El peso total (raíz, tallo, hoja). Estas ingresaron en la ficha. Según Ramírez (2014).

##### **C. Peso de materia seca**

Se realizaron la extracción del agua total de las hojas se deshidrato a temperatura en condiciones del laboratorio. Según Ramírez (2014).

#### **3.4.1.11    *Proceso de deshidratación***

Las muestras se recolectaron (15 días, 31 días y control) de *Agave americana*, para que no exista confusión cada grupo realizo este procedimiento; lo primero es cortar las espigas de las hojas, luego son lavadas, desinfectadas, secadas y pesadas. Se colocó en una estufa a 150°C por 1 hora, se repitió el proceso hasta la completa deshidratación de las hojas, observando cambios en el peso llegando a ser constante, para finalizar se molieron y se pesaron para saber cuántos gramos tiene la muestra final.

### **3.4.1.12 Prueba colorimétrica**

La prueba que se utilizó en esta investigación es para identificar las saponinas.

#### **3.4.1.12.1 Identificación de saponinas.**

Se colocaron en los diferentes frascos estériles, 10 g de muestra molida de hojas de *Agave americana* de los diferentes grupos de estrés (15 días, 31 días y control), 150 ml de agua destilada a 50°C. Luego se agitó por 30 segundos. La prueba es positiva, si la espuma perdura por más de 5 minutos.

Si, la altura es menor de 5 mm, es negativo en presencia de saponinas; si es dentro del rango de 5 a 9 mm, contiene baja saponinas y cuando es 10-14 mm, es moderada, si la altura es mayor a 15 mm, tiene una concentración alta. Según Galindo (1989).

#### **3.4.1.13 Preparación de un macerado de hojas de *Agave americana*.**

Se pesó 50 g de hojas molidas, se agregó en un frasco de vidrio color ámbar. Luego se añadió 300 ml de etanol al 70% y se dejó macerar por 2 días, se colocó en un vaso el extracto de *agave americana*, se colocó en el ultra probe del homogeneizador ultrasónico sirve para romper las células y extraer metabolitos secundarios (saponinas), para así obtener en mayor concentración. Para finalizar utilizo un rotavapor a temperatura de 80 °C por 40 minutos, permite extraer compuestos del extracto, destilando y evaporando el alcohol, recuperar así el solvente. El extracto se añadió en frascos de vidrio, se etiquetó, se almacenó, se refrigeró protegiéndolo de la luz y posterior análisis.

#### **3.4.1.14 Porcentaje de Rendimiento**

El porcentaje, se tomaría el peso final del extracto con relación al peso inicial de la muestra.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{gramos del extracto obtenido}}{\text{gramos de la muestra inicial}} \times 100$$

#### **3.4.1.15 Cuantificación de saponinas con Espectrofotometría UV visible.**

Se realizaron la cuantificación con espectrofotometría (*UV visible*) de saponinas totales de las tres muestras (15 días, 31 días y control). Las muestras molidas y maceradas fueron empaquetadas y registradas para el procesamiento. Se envió al laboratorio externo, donde fue analizado los parámetros.

#### **3.4.1.16 Preparación de los discos de sensibilidad**

Se preparó discos de papel filtro Whatman N°54, que tiene un grosor de 185 µm, permitiendo una rápida absorción, los discos son preparados con la ayuda de un perforador cuyo diámetro es de 4cm, para poder esterilizar se colocó en una placa petri de vidrio, se esterilizo en un autoclave 121 °C por 15 minutos, para tener condiciones estériles, se utilizó una campana de flujo laminar, los discos son impregnados con un volumen de 1ml de extracto de las diferentes grupos de estrés (15 días, 31 días y control) se dejó secar.

#### **3.4.1.17 Concentración inhibitoria mínima**

Se adquirió una cepa de *E. coli* 13216, que son cultivadas en placas de agar MacConkey a 37°C por 18 o 24 h. A continuación, se utilizó un mechero encendido para reducir la contaminación, la placa Petri con agar Müller Hinton, se inoculo la cepa con un hisopo estéril mediante la técnica de extendido. Después se utilizaron los discos de

sensibilidad de los diferentes grupos de estudio (15 días ,31 días y control) ya preparados anteriormente, los discos de sensibilidad con el método (Kirby-Bauer) son ubicados a una distancia proporcional, son colocados con unas pinzas estériles sobre el medio de cultivo. Se finalizó incubando 37 °C por 24 horas. Se repitió el proceso, con ello se obtuvo los resultados.

### **3.5 Técnica para el procesamiento de la información**

El diseño, empleado parámetros fisicoquímicos en el aumento de saponinas fue completamente aleatoria. Se presentaron 3 grupos (15 días, 31 días y control) para el procesamiento de estrés y la unidad experimental está constituida por 24 plántulas por grupo. En el caso de la inhibición microbiana serán 3 concentraciones por grupo de estrés con 4 repeticiones cada uno.

## Capítulo IV: RESULTADOS

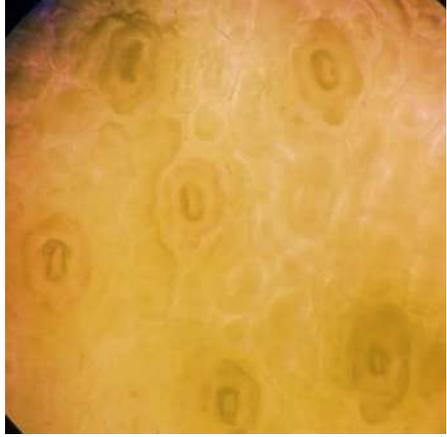
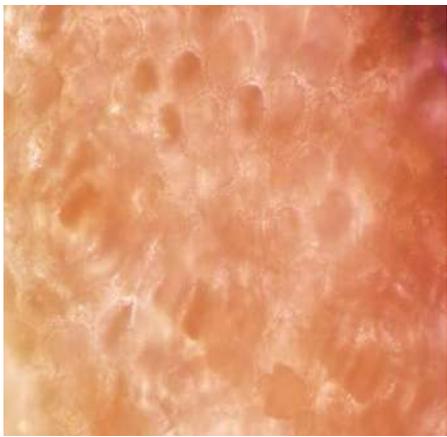
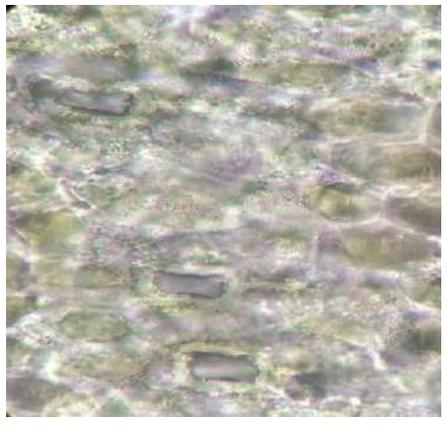
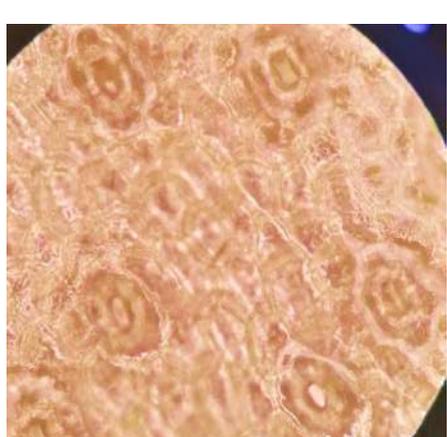
### 4.1 Análisis de resultados

Inducción al estrés de las plantas: temperatura alta y estrés hídrico.

<b>T1= 15 DIAS</b>	 A photograph showing several agave americana plants in black plastic pots. The plants are arranged in a row against a brick wall. The leaves are green but show some yellowing and wilting, indicating the start of stress.
<b>T2= 31 DIAS</b>	 A photograph showing several agave americana plants in black plastic pots. The plants are arranged in a row against a brick wall. The leaves are more yellowed and wilted compared to the 15-day treatment, showing more pronounced stress.
<b>T3= CONTROL</b>	 A photograph showing several agave americana plants in black plastic pots. The plants are arranged in a row against a brick wall. The leaves are green and healthy, indicating no stress was applied to this group.

**Figura 4.** Plantas de *agave americana* de los tres tratamientos: T1= 15 DIAS, T2= 31 DIAS, donde se observa temperatura alta y estrés hídrico controlado por un termohigrómetro, T3= CONTROL, no se realizó ningún tipo de estrés.

**Figura 5.** Ficha de observación de las estomas de la *agave americana* de grupo de estudio: (temperatura alta y estrés hídrico), durante 15 días y 31 días a temperatura alta (50-70 °C) y grupo control a temperatura ambiente.

GRUPO DE ESTUDIO	ESTOMAS (IMAGEN)	
DURANTE 15 DIAS		
DURANTE 31 DIAS		
CONTROL		

En las Figura 2 se puede observar las estomas cerrados de la agave americana durante su proceso de estrés (15 y 31 días) en comparación de las estomas del grupo control que se encuentran abiertas.

## PESO

Las plantas (raíz, tallo y hojas) recolectadas después del tratamiento, fueron pesadas para calcular la humedad y rendimiento causada por el estrés abiótico.

**Tabla 3.** Peso inicial (g) y final (g) durante los días de estrés.

15 DIAS		31 DIAS		CONTROL	
INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
0.9	0.42	0.6	0.28	0.5	0.78
0.76	0.5	0.48	0.28	0.76	0.72
0.8	0.62	0.72	0.32	0.62	0.56
0.72	0.36	0.74	0.3	0.64	0.4
0.74	0.22	0.66	0.3	0.5	0.52
0.78	0.7	0.7	0.26	0.6	0.52
0.64	0.48	0.8	0.42	0.54	0.46
0.72	0.26	0.58	0.76	0.68	0.65
0.66	0.38	0.74	0.44	0.7	0.51
0.54	0.34	0.68	0.4	0.66	0.46
0.72	0.18	0.7	0.16	0.59	0.56
0.18	0.3	0.58	0.39	0.72	0.55

**Tabla 4.** Resultados del peso promedio de las muestras recolectas al final del tratamiento de estrés.

GRUPOS	PESO %
T1 (15 DIAS)	0.3967 a b
T2 (31 DIAS)	0.3592 b
T3 (CONTROL)	0.5575 c

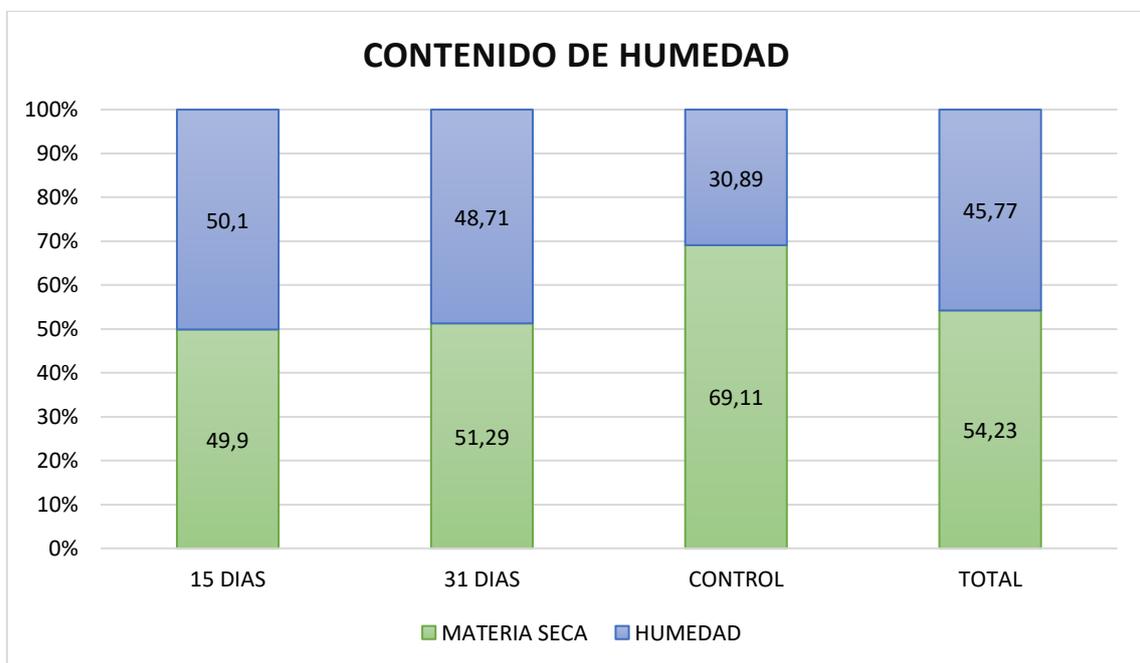
\*Medidas con letras distintas para diferenciar significativamente según prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Se puede observar la reducción de biomasa significativa entre los grupos (T1 y T2) siendo el T3 (Control) con menos pérdida de biomasa.

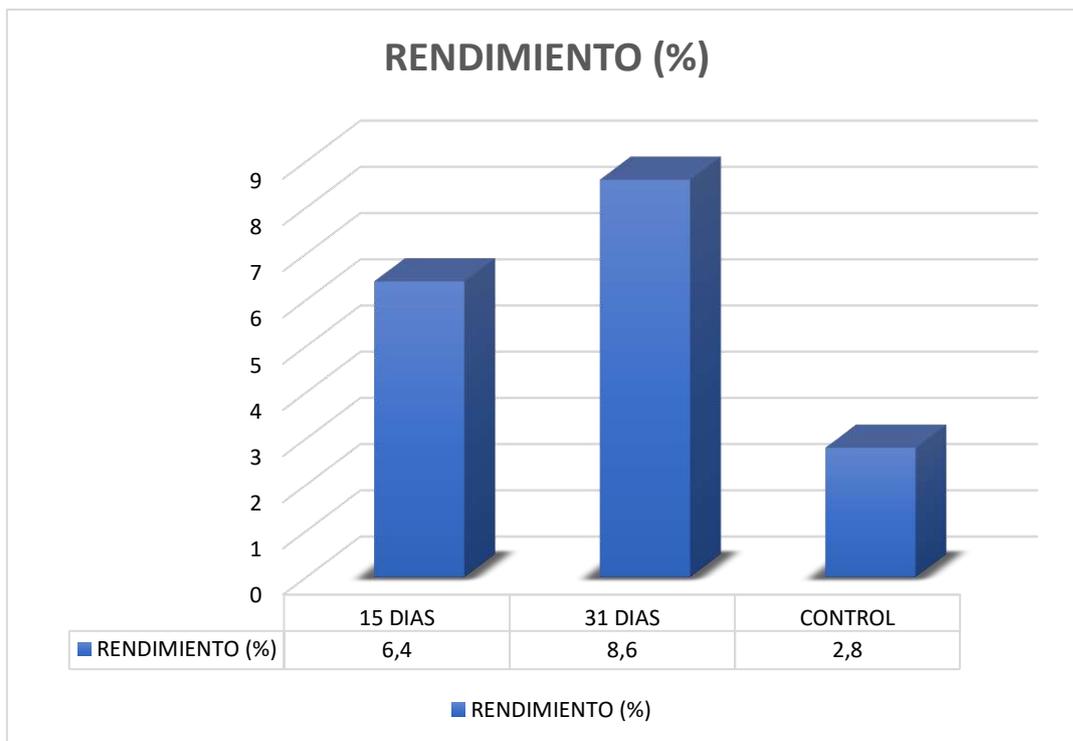
### **PORCENTAJE DE RETENCION DE HUMEDAD**

Las muestras vegetales fueron recolectadas y pesadas por grupo, luego fueron secadas en estufa a temperatura de 100°C por 3 h 30 minutos, fueron molidas y preparadas para la maceración.

<b>15 DIAS</b>	<b>31 DIAS</b>	<b>CONTROL</b>	<b>TOTAL</b>	
495	581	259	1335	<b>PESO FRESCO (g)</b>
247	298	179	724	<b>PESO MOLIDO (g)</b>



**Tabla 5.** Contenido de humedad después del tratamiento de estrés y el control.



**Tabla 6.** Comparación de porcentaje de rendimiento en diferentes grupos de estrés.

### Prueba de la espuma

Para identificar las saponinas, se observa la formación de espuma persistente con una longitud de más de 3 cm que dure más de 30 minutos, según González (2011) y García (2008).

**Tabla 7.** Comparación del índice de espuma en (cm) entre los diferentes grupos de estrés.

	MEDIDA DE ESPUMA (cm)
15 DIAS	3.5
31 DIAS	7
CONTROL	4.5

Las saponinas se midieron según la altura de la espuma. “sí, la altura de la espuma, es menor a 5 mm, el resultado es negativo. Si, la altura es de 5 a 9 mm, es bajo de saponinas, si mide 10 a 14 mm, es moderado; pero si la altura es mayor a 15 mm, tiene mayor concentración de saponinas”. Según Galindo et al., (1989).

Nuestros resultados fueron de 3.5 cm (15 días), 4.5 cm (control) y 7 cm (31 días) cayendo en la categoría de la concentración de saponinas.

### TEST AFROSIMÉTRICO

**Tabla 8.** Resultado del test afrosimétrico del extracto de las hojas de *Agave americana*, la concentración de saponinas según el tiempo de durabilidad de la espuma.

GRUPO	REPETICIONES	RESULTADO
15 DIAS	1	+++
	2	+++
31 DIAS	1	+++
	2	+++
CONTROL	1	+++
	2	+++

Significado según el tiempo de duración de espuma.: (+++) >30 min, tiene mayor durabilidad de espuma; (++) 20-25 min, tiene poca durabilidad de espuma; (+) 5-20 min, tiene baja durabilidad de espuma.

Se observa que los tres grupos de hojas de *Agave*, tiene una permanencia de espuma más de 30 minutos.

### CUANTIFICACION DE SAPONINA CON ESPECTROFOTOMETRIA UV

Las muestras recolectadas fueron desinfectadas, secadas y luego maceradas por 24 horas, se realizó la prueba de *espectrofotometría* UV visible, para evaluar la concentración de saponinas.

**Tabla 9.** Concentraciones de saponinas de hojas deshidratadas (molidas) y extracto de *Agave americana*.

GRUPO	CONCENTRACION DE SAPONINAS EN POLVO SECO (g)	CONCENTRACION DE SAPONINAS EN EXTRACTO (mg/ml)
15D	0.10 ± 0.01	65.64 ± 0.40
31D	0.59 ± 0.01	41.46 ± 0.40
CONTROL	0.28 ± 0.01	82.41 ± 0.40

La comparación de la cuantificación de saponinas entre los grupos de estrés de 15 días la concentración de saponinas en polvo seco (g)  $0.10 \pm 0.01$ , es la más baja, pero la concentración de saponinas en extracto (mg/ml)  $65.64 + 0.40$ , mientras que el de 31 días la concentración de saponinas en polvo seco (g)  $0.59 \pm 0.01$ , es la más alta, pero en concentración de saponinas en extracto (mg/ml)  $41.46 + 0.40$ , mientras que el control la concentración de saponinas en polvo seco (g) es de  $0.28 \pm 0.01$ . la concentración de saponinas en extracto es la más alta (mg/ml)  $82.41 + 0.40$ .

### **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

Los resultados demuestran que los extractos etanolicos en diferentes tratamientos: 15 días 31 días y el control, no presentan actividad antimicrobiana frente la cepa *E. coli* 132116, al no observarse un halo inhibitorio en las placas.

## Capítulo V: DISCUSION

### 5.1 Discusión de resultados

Comienza el estrés hídrico y temperatura alta en la planta de *Agave americana*, los primeros 15 días, disminuyó significativamente la biomasa de las hojas (32%), respecto al inicio de los tratamientos, así como las estomas se encontraron ligeramente cerradas y la retención de agua fue de 50.1%. esto implica que las plantas típicas de ambientes secos, intentaron adaptarse a los cambios repentinos, generando una respuesta mecánica para disminuir. La transpiración y el cierre de las estomas con lleva a la pérdida de agua.

Esto se confirma con los resultados obtenidos después de los 31 días de estrés, la pérdida de biomasa de las hojas (56%) es significativa en comparación al inicio del tratamiento. Sin embargo, al compararlas con los de 15 días de tratamiento, la diferencia es ligeramente significativa, debido a la adaptación de las plantas al cambio de temperatura y falta de riego. Las estomas se encuentran cerradas en su totalidad, la retención de agua es de 48.7%. Nuestros resultados demuestran una respuesta para disminuir la pérdida de agua por la transpiración, provoca que se acumule energía que debe eliminarse por otras vías, así incrementa de metabolitos secundarios. Los factores climáticos como la humedad y temperatura afectan las funciones como la fotosíntesis y respiración. Según Selmar (2013).

Los resultados del estudio coinciden con los de Ruiz, G. y otros. (2007) quienes evaluaron la reacción fisiológica a la sequía intermitente; los citados autores determinaron que las plántulas de maguey, toleran la sequía discontinua y los primeros 30 días estimula la reducción neta de la tasa fotosintética.

Al observar los rendimientos para los extractos obtenidos por los diferentes tratamientos (15 días 6.4% y 31 días 8.6%) se puede ver que el de 31 días es mayor significativamente,

pero al comparar, los resultados con los de Moreta F., (2020), donde se obtuvo 8.28 % de una planta de 1 año y 25.13 % de 3 años sin ser inducidas a ningún tratamiento, plenamente recolectadas. Se puede concluir que los factores de temperatura y sequia influyen significativamente con los rendimientos obtenidos en un macerado.

La presencia de saponinas pudo ser confirmada a través de un estudio fisicoquímico a los diferentes extractos etanolicos de las hojas, el test afrosimétrico, la prueba de saponinas, donde marco (+++) en los tres extractos etanolicos y espectrometría UV para la cuantitativa, donde la del grupo de 31 días contiene la mayor cantidad de concentración de saponinas en polvo seco (0.59 g), pero en la de maceración es el grupo control (82.41 mg/ml) en comparación a los demás.

Los resultados obtenidos al compararse con el trabajo de Moreta F., (2020), donde la concentración de saponinas de un extracto metanolic al 96% de *Agave americana* de 1 año es de 73.535 mg/mL se concluye que nuestro método de extracción de saponinas se puede obtener una cantidad similar con diferente disolvente.

Además, al observa los resultados obtenidos de concentración de saponinas en polvo es similar al estudio de Montserrat A., (2017) donde obtuvo 0.30 en *Agave durangensis* y 0.47 en *Agave salmiana ssp.* plantas adultas en condiciones normales, esto demuestra que la planta de *Agave americana* de nuestra zona aclimatada en condiciones normales de zona costera disminuye su contenido de saponinas, y en condiciones ambientales parecidas a zonas secas genera un aumento o estabilidad en su concentración de saponinas, a pesar de la diferencia de humedad y sobre niveles del mar.

Concluyendo que la temperatura, como las reservas de agua son importantes para producir las saponinas. Hay pocos datos en relación a las saponinas en las plantas causados por factores ambientales. Según Szakiel y col., (2011).

Los resultados obtenidos en este trabajo, es la falta de actividad antimicrobiana del *Agave americana* frente a la *E. coli*, no concuerdan con Camacho et al. (2020). Tal diferencia se puede atribuir, que el efecto antimicrobiano, que se obtuvo con el extracto etanolico del 90 % de hojas adultas, contenían mayor concentración de saponinas, en comparación al extracto etanolico del 70%, de hojas de un año. Debido que para la obtención de saponinas influye mucho su diluyente que en este caso fue de un etanol al 70%, genero un aumento en azucares reductores generando tal vez que las saponinas obtenidas no tuvieron efecto microbiano.

Además, que si bien hubo un aumento de saponinas no se pudo identificar qué tipo de saponinas aumentaron por los tratamientos, no hubo efecto antimicrobiano a comparación obtenida por Moreta F., (2020), debido al método de extracción se utilizó la concentración pura aislada de saponinas en comparación de nuestra investigación que es la extracción de saponinas obtenidas por los tratamientos.

## Capítulo VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

- El presente trabajo, caracterizó 3 tratamientos de estrés del *Agave americana*, donde se pudo observar la disminución y aumento de saponinas causadas por factores fisicoquímicos (temperatura alta y sequia) incluyendo el metro sobre el nivel del mar, debido a la comparación con bibliografías de la planta recolectadas en su hábitat, la cantidad de concentración de saponinas mayormente era influido por la especie y edad de la planta, pero con este trabajo se ha demostrado que en condiciones controladas los factores ambientales pueden influir a estabilizar o aumentar su composición fitoquímica, independiente de la zona en la que se encuentre.
- El extracto etanólico en diferentes concentraciones no presentaron actividad antimicrobiana frente a la bacteria *E. coli*132116. Posiblemente debido a los diferentes tipos de saponinas dentro de la especie que varía en cantidad según la edad de la planta, debido al desarrollo de su producción de metabolitos secundarios mientras crecen. Al ser nuestra muestra de estudio muy joven (1 año de crecimiento) su contenido de saponinas esteroidales es muy baja para generar una actividad antimicrobiana, comparados a una planta adulta de entre 8 a 12 años. Además, el método de obtención de saponinas podría ser un factor a considerar por el tipo de solvente más adecuado para su purificación.

## 6.2 Recomendaciones

- Para el *Agave americana* se recomienda, protocolo de desinfección, durante los tratamientos se encontró expuesto a muchos contaminantes biológicos, dificultando una obtención pura de saponinas.
- Se debe establecer un rango de tiempo para los tratamientos de estrés, así determinar un mejor aumento de saponinas y recordar que las edades de la muestra influyen también en los resultados.
- En el caso del extracto etanólico del *Agave americana* se recomienda utilizar un etanol de 96% o metanol para una obtención más óptima de saponinas.
- Se sugiere una identificación de saponinas para determinar que saponinas fueron aumentadas por los tratamientos, generando así un nuevo tema de investigación.
- Teniendo esta investigación desarrollada sobre el aumento de saponinas por factores fisicoquímicos también se podría emplear para empezar a trabajar con otros tipos de muestras de la familia *Agave* y/o edades para poderlas emplear en otras investigaciones.

## REFERENCIAS

### 7.1 Fuentes bibliográficas

- Acosta, G. J. (2008). Alcaloides y compuestos nitrogenados. Colombia.
- Andrijany., V., (1999) Efecto simultáneo de los iones calcio, magnesio, cobre y cobalto sobre el contenido de esteroides sapogeninas en cultivos de callos de *Agave amaniensis*.
- Andrews, J.M. (2001) Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5-16.
- Ahumada Santos (2013). Caracterización química, actividad antioxidante y antibacteriana de seis especies de *Agave de Sinaloa*, México
- Alonso, J. (2004). Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos. (E. O. Mestre, Ed.) Argentina: CORPUS.37(2), pg. 123-145.
- Augustin M., Vera Kuzina, Sven B., Søren Bak, (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins: *Phytochemistry*, Volume 72, Pages 435-457. Plant Biochemistry Laboratory, Department of Plant Biology and Biotechnology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Thorvaldsensvej.
- Barreto., R., et al. (2010) Influencia de los reguladores del crecimiento de las plantas y el estrés hídrico en la inducción de ramet, el engrosamiento de rosetas y la acumulación de fructanos en *Agave tequilana Weber var. Azul*.
- Bernards A., Dimitre A., Neculai A., Robert W., (2011). Ginsenosides: ¿Phytoanticipins or Host Recognition Factors? In book: *The Biological Activity of Phytochemicals* (pp.13-32).

- Blunden, G., Y. Yi y K. Jewers (1973). "*The comparative leaf anatomy of Agave, Beschorneria, Doryanthes and Furcraea species (Agavaceae: Agaveae).*" *Botanical Journal of the Linnean Society* 66(2): pg.157-179.
- Borroto B. J. & otros (2005). Meroterpenos (Antraquinonas) en diferentes partes de la Planta de *Morinda Royoc* L. Revista CENIC.
- Bowsher C.; Steer, M.; Tobin, A. (2008) *Plant Biochemistry*. New York. USA. *Gerland Science*. Taylor & Francis Group, LLC.
- Carretero., M., (2000). Compuestos fenólicos: Taninos. *Panorama Actual Med*: 24(235): pg. 633-636.
- Casierra P. & otros (2006). Relaciones hídricas y distribución de materia seca en especies de fique (*Furcraea* sp. Vent.) cultivadas bajo estrés por NaCl. Colombia, *Rev. Agron. Colom.* Vol 24.
- Camacho C., Pérez H, Valdivia A., Rubio F., Fuentes A., (2020), Evaluación fitoquímica, antibacteriana y molusquicida de extractos de hojas de *Agave* spp, *Rev. Cubana Quím.* Vol.32, no.3 págs. 390-405, e-ISSN: 2224-5421, Centro de Estudios Biotecnológicos, Universidad de Matanzas, Cuba.
- Cóndor, M., (2018). "Efecto antibacteriano In vitro de extracto del maguey (*Agave americana*) sobre *Streptococcus spp.* de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) – Abancay". Apurímac, Perú.
- Davey, C. B. (1984). Establecimiento y manejo de viveros para pinos en la América tropical. Cooperativa de recursos de coníferas de Centro América y México (CAMCORE) Universidad del Estado de Carolina del Norte. Bol. No. 1. 43 p.
- Dávila, V. CV. 2002. Estrategias para la comercialización de los derivados de la cabuya

(*Agave americana* L.). Universidad Nacional Agraria la Molina. 95 p. Lima-Perú.

Espinoza R., Serna Q., (2018). EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL LÁTEX DE *Croton lechleri* Müll. Arg. (SANGRE DE GRADO) FRENTE A *Staphylococcus aureus*. Facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Perú.

Eguiarte L.E. y Souza V., (2007). Historia natural del Agave y sus parientes: Evolución y Ecología. En: Colunga-GarcíaMarín P., Larqué S.A., Eguiarte L.E. y Zizumbo-Villareal D. Eds. En lo Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros Agaves, pp. 3-22, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida.

Fowler MW., (2006). Plants, medicines and man. Vol. 86, Journal of the Science of Food and Agriculture. p. 1797–804.

Galindo F.W., Rosales M., Murgueitio e., Larrahondo J. (1989). Sustancias antinutricionales en las hojas de guamo, nacedero y matarratón. Livestock research for rural development. 1(1):1-15.

Garcés., F y Forcelini. C., (2011) Peso de hojas como herramienta para estimar el área foliar en soya. Ecuador, Ciencia y Tecnología 4(1): 13-18.

García-Mendoza, A. J. (2007). Los agaves de México. Ciencias. 87(jul-sep):14-23

García M, & otros (2022). Estudio comparativo del contenido de sapogeninas esteroidales en hojas de cinco especies *de Agave*. Rev. SCI VOL. 102 PG 5653-5659

García-Mendoza, AJ. Jacques-Hernández, C. & Salazar, B, A. (2007). Una nueva especie de *Agave*, subgenero *Littaea* (*Agavaceae*) De Tamaulipas, México. Journal of the Botanical Research Institute of Texas 1(1).

- Guclu-Ustundang O., Mazza G., (2007) Saponins: properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 231-258.
- Gutiérrez, E., (2015), "Actividad antifúngica del extracto etanólico de hojas y raíces de *Agave americana* "cabuya" frente a *Moniliophthora roreri* "monilia". Ayacucho, Perú.
- Hammuel, C, Yebpella, GG, Shallangwa, GA, Asabe, M, Magomya, AM & Agbaji, AS., (2011). Phytochemical and antimicrobial screening of methanol and aqueous extracts of *Agave sisilana*. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, vol. 68, pp. 535-539.
- Hamissa, A. M., M. Seffen, B. Aliakbarian, A. A. Casazza, P. Perego and A. Converti. (2012). Phenolics extraction from *Agave americana* (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and Bioproducts Processing* 90: 17-21.
- Iglesias Gutiérrez, L. y Alarcón Bustamante, M. (1994). Preparación de sustratos artificiales para la producción de plántula en vivero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Campo experimental Sierra de Chihuahua. 31 p.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(1), 100-105.
- Juang, Y. P. y Liang, P. H. (2020). Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules*. 25 (21): 4974.
- León V, NI., GV. Campos, JR. Enríquez-del Valle, VA. Velasco, F. Marini, & G. Rodríguez. (2013). Diversidad de especies de agave en San Miguel Tilquiapam, Ocotlán, Oaxaca. *Ciencias Agrícolas* N°6: 1185-1195 p.

- Leal y otros (2015). Efecto de la Madurez de *Agave americana* y *Agave salmiana* sobre el Contenido de Saponina de Aguamiel (Savia de Agave). *J. Agric. Química alimentaria*, vol:63 (15), pag.3924–3930, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.5b00883>
- Lacaille-Dubois M. A. and Wagner H. A., (1996). A review of the biological and pharmacological activities of saponins: *Phytomedicine*, 2(4):363-386.
- Marchese A., Ferreira FS., Rehder LR. y Osmar Rodrigues. (2010). Efecto del déficit hídrico sobre la acumulación de biomasa y artemisinina en ajeno anual (*Artemisia annua* L., Asteraceae). Laboratorio de Bioquímica y Fisiología Vegetal, Universidad Federal de Tecnología - Paraná (UTFPR), Pato Branco-PR, 85503-390, Brasil.
- Martines., E., (2007) Definiciones de humedad y su equivalencia. México.
- Martínez-Flórez S., González-gallego J., Culebras\* J. M. y Tuñón M.<sup>a</sup> J. (2002) Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Hospital de León. España. *nutrición Hospitalaria* XVII (6) 271-278.
- Moreta, F. (2020). Actividad insecticida del extracto metanólico de las hojas de *Agave americana* L. obtenidas a diferentes edades de crecimiento. Universidad Central del Ecuador.
- Montserrat A., (2017) Efecto de las saponinas esteroides del *Agave* sobre la composición de la pared celular de polisacáridos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces marxianus*, EE. UU.
- Nobel P.S. (2011). Sabiduría del desierto, agaves y cactus: CO<sub>2</sub>, agua, cambio climático. 2a ed. Biblioteca Básica de Agricultura, Texcoco.

- Peña-Valdivia C.B. y Sánchez-Urdaneta A.B. (2009). Effects of substrate water potential in root growth of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings. *Biological Research* 42:239-248.
- Pérez., M., (2013-2014) *Farmacognosia y Medicamentos Herbarios: Terpenos*. Universidad Central de Venezuela. Venezuela.
- Pino, GI. (2006). Estado actual de las suculentas en el Perú. *Zonas Áridas*, vol. 10, pp. 155- 173.
- Pimentel B. L. 1971. Viveros; semilleros portátiles y el trasplante anticipado. *Revista Bosques y Fauna (México)* 8(3):4-26.
- Ramachandra Rao S, Ravishankar GA., (2002). Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. Vol. 20, *Biotechnology Advances*. p. 101–53.
- Ramírez, H., Peña, C. B., & Aguirre, J. R. (2014). Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de agave a la restricción de humedad. *Botanical Sciences*, 92(1), 131–139. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S20074298201400010001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S20074298201400010001)
- Ramírez T. & otros (2014) Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de *Agave* a la restricción de humedad. Mexico, *Rev. Bot. SCI* Vol. 92.
- Ramos., C., Amigo., C., Speranza., N., Tamosiunas., G., (2017). Medicamentos flebotónicos, ¿qué podemos esperar en el tratamiento de la ivc de miembros inferiores. *Noletín Farmacológico*. Volumen 8 No 1.
- Rivera R. (2016). Aporte del *Agave americana* a los servicios ecosistémicos en la Comunidad Campesina de Joras-Ayabaca-Piura; Perú. Tesis para optar el grado de MSc. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Rodríguez., R., (2016) calor y temperatura. *Apuntes Marea Verde*.

Ruiz, G. Peña-Valdivia, L. Trejo, A. Sánchez (2007) Reacción fisiológica del maguey (*Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck*) a la sequía intermitente. México. *Rev. Fav. Agron. (LUZ)*. *Supl. 1*: 318-32.

Sánchez Aristizabal V. & Santa Castaño J. (2009). Estudio de antraquinonas presentes en extractos de mucilago y lealhojas de *Aloe vera* de plantas cultivadas en la región cafetera. Pereira.

Shegute, T., Wasihun, Y., (2020). Actividad Antibacteriana y Componentes Fitoquímicos de Extractos de Hojas de *Agave americana*. África Oriental. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33173356/>

Selmar D, Kleinwächter M.(2013). Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. *Plant Cell Physiol.*;54(6):817–26.

Szakiel A., Paczkowski C., Henry M., (2011) Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews* 10: 471-49.

Velázquez, J., Maldonado, R., & Se, L. (2010). Diagnóstico de la fertilidad y requerimiento de cal de suelos cultivados con *agave azul (Agave tequilana Weber)* *Fertility Diagnosis and Lime Requirement of Soils Cultivated with Blue Agave*.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (1994). ECOCROP 1. The adaptability level of the FAO crop environmental requirement database. Version 1.0 AGLS. Rome, Italy.

## **7.2 Fuentes electrónicas**

Barriada-Bernal LG, Almaraz-Abarca N, Delgado-Alvarado EA, Gallardo-Velázquez T, Ávila-Reyes JA, Torres-Morán MI, González-Elizondo MS, Herrera-Arrieta Y. (2014).

Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae) *CyTA J*/ doi: 10.1080/19476337.2013.801037.

Cheok CY, Salman HAK, Sulaiman, R. (2014). Extracción y cuantificación de saponinas: una revisión. *Alimentos Res Int.* 59: 16–40. doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.057

Hernández, J., & Salazar, A. (2009). Caracterización y usos de las especies de *agave* en Tamaulipas *Ciencia Conocimiento Tecnología* N° 89. Disponible en [https://issuu.com/rodrigotomoreno/docs/revista\\_conocimiento\\_89](https://issuu.com/rodrigotomoreno/docs/revista_conocimiento_89)

Jacques-Hernández, C. & Salazar, B. A. (2009). Caracterización y usos de las especies de *agave* en Tamaulipas, *Ciencia Conocimiento Tecnología* N°89. Disponible en [https://issuu.com/rodrigotomoreno/docs/revista\\_conocimiento](https://issuu.com/rodrigotomoreno/docs/revista_conocimiento)

Navarro, K. (2017). Plagas en cultivos de papa, *Agricultura*. <https://www.informeagricola.com/que-plagas-afectan-nuestros-cultivos>

Nieves. A. Barcena, J. Fernández. (2020). Espectrofotometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de Biomoléculas. <https://idoc.pub/documents/determinacion-espectrofotometrica-de-hierro-mw11jppyg5lj>.

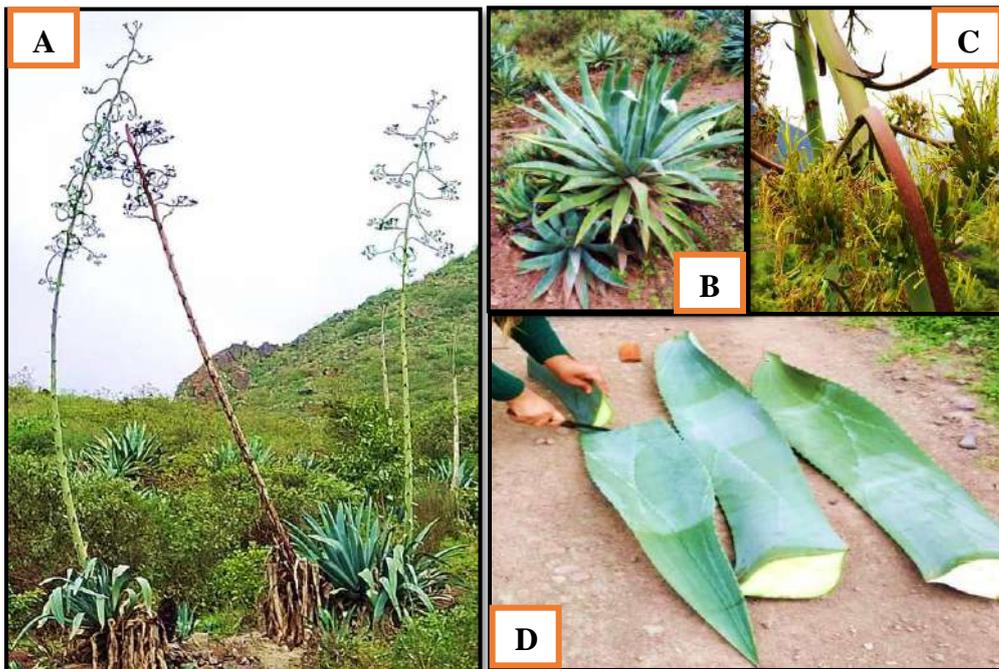
Velada, G. (2022). Blog de Gran Velada. Obtenido de <https://www.granvelada.com/blog/diferencias-tipos-extractosvegetales/#:~:text=Hidroalcoh%C3%B3licos%20o%20tinturas%3A%20macerados%20en,macerados%20en%20glicerina%20y%20agua>.

Zobayed SMA, Afreen F, Kozai T. (2007). Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John's wort plants under a water stress condition. *Environ Exp Bot*;59(2):109–16.

## ANEXOS



**Figura 6.** Localización geográfica de estudio, centro poblado de Virunhuayra, se ubica en la región yunga a 2507 msnm del distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima.



**Figura 7.** Material biológico que se utilizó para la identificación morfológica como (hojas, flores) D y C, fotografía de la especie en el campo, A y B. estas fueron transportadas al Herbario de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL), para determinar la taxonomía de la especie.



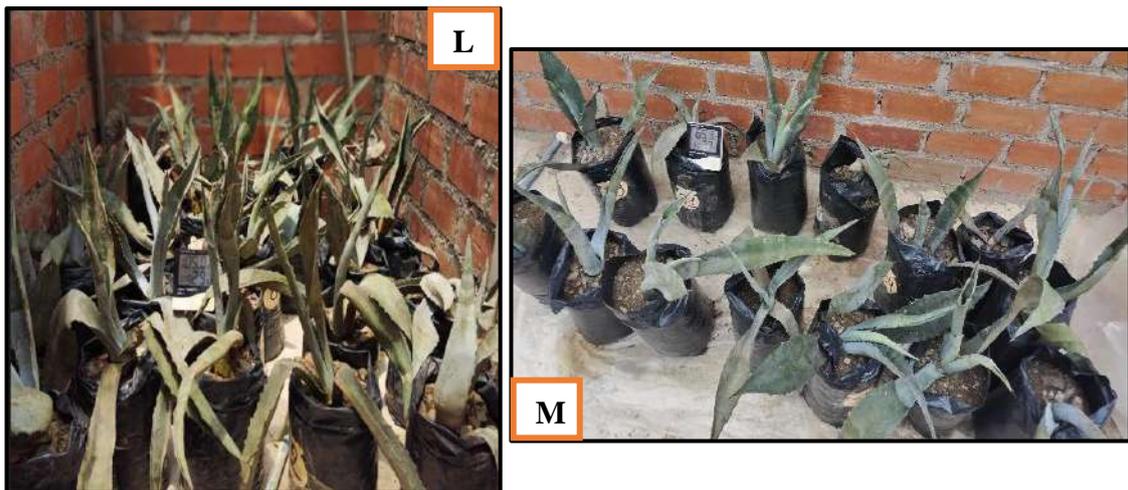
**Figura 8.** Se midió las plantas altura y el ancho de la hoja, para luego iniciar el sembrando 36 plantas de *agave americana* en bolsa de 7kg se agregaron sustratos como: el abono, arena y piedras pequeñas (1:1), llenaron hasta los bordes de la bolsa, imagen (F), se pesaron cada una de ellas imagen (G), registrándolas en la ficha.



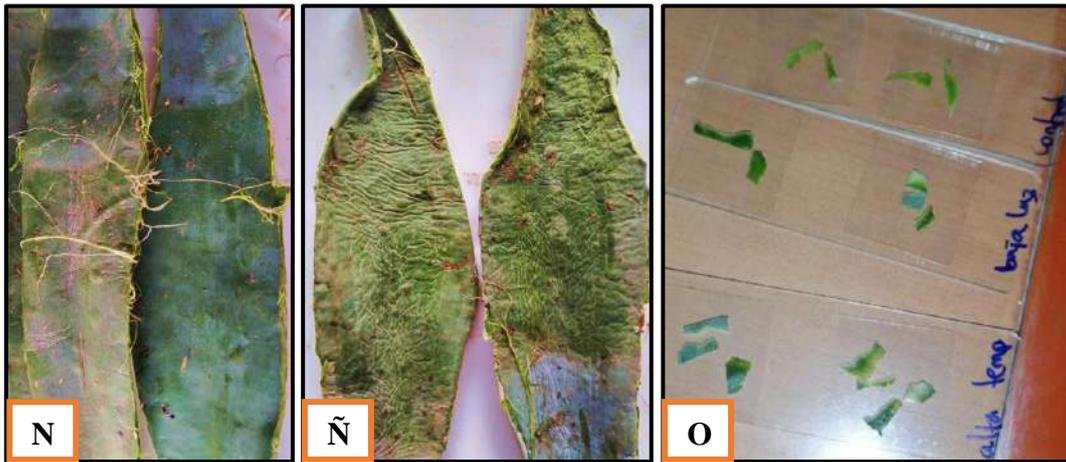
**Figura 9.** En un balde se preparó enraizador este se diluido en agua, imagen (H), éstas se regaron en cada planta solo una vez, se empezó la aclimatación del *Agave americana* durante 31 días dentro del invernadero en temperatura ambiente, se regaron 1 vez por semana, imagen (I).



**Figura 10.** Se ordenaron en 6 filas por 6 columnas verticales de 36 plantas, se colocaron números para identificándolos, se utiliza un termohigrómetro para saber la temperatura ambiental en la cual se están adaptando las plantas, imagen (J). Se observó cambios en las plantas adaptas como hojas secas, imagen (K). Se recolectaron datos de la aclimatación en la Tabla 1: Ficha de registro de aclimatación de *agave americana*.



**Figura 11.** Después de la aclimatización las plantas son separadas en 3 grupos de 24 plantas, estos se estresaron 12 horas por día con ayuda de un calefactor eléctrico, se midió (temperatura alta, humedad relativa) con un termohigrómetro digital, se dejó de regar comenzando así el (estrés hídrico) durante 15 días y 31 días hasta culminar el estudio, imagen (L) y 12 en el grupo control temperatura ambiental y riego 1 vez a la semana. imagen (M). Se recolectaron datos en la Tabla 2: Ficha de registro de estrés fisicoquímico como la temperatura alta estrés hídrico.



**Figura 12.** Comparación de las hojas de *agave americana*, la hoja del grupo control se ve lisa, no sufrió ningún cambio físico, imagen (N), la hoja del grupo que ha sido estresado por temperatura alta y estrés hídrico durante 15 días y 31 días se ve rugosa, si hubo cambio físico, imagen (Ñ), se realizó cortes histológicos de *agave* para observar las estomas, imagen (O). se observan imágenes de estomas en los resultados. Se recolecto imágenes de las estomas en la Tabla 3: Ficha de registro de estomas *agave americana* del grupo de estudio de temperatura alta y estrés hídrico durante 15 y 31 días, entre temperatura de (50-70 °C) y control temperatura ambiente.



**Figura 13.** Se midió la altura y el ancho en las hojas de las *agaves* como se observa en la imagen (O), se pesaron los 3 grupos el de estrés de 15 y 31 días las hojas y el control en una balanza analítica, antes de ingresar a la estufa, imagen (P).



**Figura 14.** Después que las hojas salieran de la estufa, Se pesaron las hojas deshidratadas, imagen (Q), luego se utilizó una máquina de moler, imagen (R), las hojas deshidratadas se molieron hasta quedar polvo, imagen (S). Se recolectaron datos en la Tabla 4.



**Figura 15.** Se macero en unas botellas a temperatura ambiente por 2 días las muestras de los grupos de 15 días, 31 días y control observado en la imagen (T), se utilizó un homogeneizador ultrasónico se colocó en un vaso el extracto de *agave americana* según la imagen (U), se colocó el extracto en el ultra probe sirve para romper las células así extraer componentes como los metabolitos secundarios (saponinas).



W

**Figura 16.** Para finalizar utilizamos un rotavapor en temperatura de 80 °C por 40 minutos nos permite extraer los compuestos del extracto etanólico destilando y condensando, evaporando el alcohol del extracto. Imagen (W).

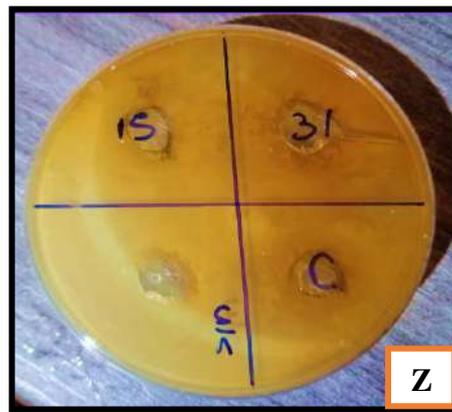


X

**Figura 17.** Se midió en un vaso precipitado el extracto saponinas del grupo control, según la Imagen (X).



Y



Z

**Figura 18.** Se observa en las placas, los discos con extracto de saponinas de *agave* de los grupos de: 15 días, 31 días y el control donde no presentaron actividad antimicrobiana, no se presenció halo, según las Imágenes (Y) y (Z).



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Departamento Académico de Biología



La Molina, 6 de febrero de 2023

**CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA**  
001-2023-HM-UNALM

Mediante la presente se informa que las muestras provenientes del distrito de Gorgor, provincia de Cajatambo, departamento de Lima, remitidas por las Srtas. Lady Carolyn Yessenia Quito Jesús & Diana Selene Pacheco Espinoza, correspondientes al proyecto de investigación « Optimización de factores fisicoquímicos en el *Agave americana* para el aumento de saponinas con efecto antimicrobiano », fueron estudiadas en el Herbario del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL) para su determinación taxonómica. El examen y reconocimiento de los caracteres morfológicos de orden cualitativo y cuantitativo en tales especímenes (hojas, flores, frutos y semillas), complementados con el análisis de imágenes fotográficas obtenidas en campo, permiten concluir que corresponden a la especie *Agave americana* L. de la familia Asparagaceae. La clasificación taxonómica de la especie según el sistema APG IV (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) es la siguiente:

Clado	:	angiospermas (≡ Angiospermae)
Clado	:	mesangiospermas (≡ Mesangiospermae)
Clado	:	monocots (≡ Monocotyledoneae)
Orden	:	Asparagales
Familia	:	Asparagaceae
Género	:	<i>Agave</i> L.
Especie	:	<i>Agave americana</i> L.

Atentamente,

**Ph.D. Aldo Ceroni Stuva**  
Director  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina



**Arturo Granda Paucar**  
Investigador Adjunto  
Herbario del Dpto. de Biología (MOL)  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina

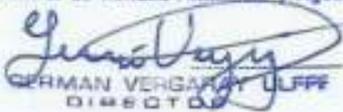


**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS, AGUAS Y  
AMBIENTES**

Presente:

El laboratorio de Control de Calidad de Alimentos, Aguas y Ambientes de la facultad de Ciencias Biológicas hizo entrega física de una placa con *E.coli* 13216 a la señorita Lady Carolyn Yessenia Quito el 11 de abril del 2023. Se deja constancia que la entrega fue concretada.

U. N. M. S. M.  
lab. Control de Calidad Alimentos y Aguas  
  
GERMAN VERGARA ULFE  
DIRECTOR

Lima, 12 de Julio del 2023

**Tabla 1:** Ficha de registro de aclimatación de *agave americana*.

<b>N°</b>	<b>N° DE HOJAS</b>	<b>PESO (Kg)</b>	<b>LARGO</b>	<b>ANCHO</b>	<b>FECHA</b>
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					



**Tabla 3:** Ficha de registro de estomas *agave americana* del grupo de estudio de temperatura alta y estrés hídrico durante 15 y 31 días, la temperatura de (50-70 °C) y control temperatura ambiente.

GRUPO DE ESTUDIO	ESTOMAS (IMAGEN)	
TEMPERATURA ALTA DURANTE Y ESTRÉS HIDRICO 15 DIAS		
TEMPERATURA ALTA DURANTE Y ESTRÉS HIDRICO 31 DIAS		
CONTROL		

**Tabla 4:** Ficha de registro de *agave americana* en el procesamiento de deshidratación de las hojas de *agave americana* hasta llegar a polvo.

N°	GRUPO DE ESTUDIO	N° DE HOJAS	PESO TOTAL DE LA PLANTA (Kg)	PESO DE HOJAS (Kg)	T° DE ESTUFA	PESO DE MATERIA SECA (Kg)	PESO MOLIDO (kg)	FECHA
	TEMPERATURA ALTA DURANTE Y ESTRÉS HIDRICO 15 DIAS							
	TEMPERATURA ALTA DURANTE Y ESTRÉS HIDRICO 31 DIAS							
	CONTROL							

**Tabla 5:** Ficha de registro los diferentes tratamientos de extracto de *Agave americana* para sensibilidad y resistencia de microorganismo.

BACTERIA	DIFERENTES TRATAMIENTOS	ESCALA		
		R	INT	S
E. COLI 13216	15 Dias			
	31 Dias			
	Control			

❖ Escala para comparar la inhibición según Duraffourd.

ESCALA

MEDIDAS

Resistencia (-):

Diámetro menor a 8 mm

Sensibilidad intermedia (++):

Diámetro dentro 14 y 20 mm

Alta sensibilidad (+++):

Diámetro mayor a 20 mm