



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tlajomulco



TESIS

CON EL TEMA:

**“EVALUACIÓN DE FORMULACIÓN DE SAPONINAS DE
AGAVE Y LIMONENO COMO BIOHERBICIDA”**

QUE PRESENTA:

ROCIO ITZAYANA LOPEZ NUÑEZ

ASESOR:

MC. OSVALDO AMADOR CAMACHO

REVISORES:

**DRA. MARIA DE JESUS RAMIREZ RAMIREZ
MC. JORGE ARMANDO PERALTA NAVA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN AGRONOMÍA**

TLAJOMULCO DE ZÚÑIGA, JALISCO. MAYO, 2023.



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **28/Enero/2023**

No. DE OFICIO: D.SA/230/2023

ASUNTO: Autorización de impresión definitiva y digitalización.

**C. ROCIO ITZAYANA LOPEZ NUÑEZ
PASANTES DE LAS CARRERAS DE INGENIERIA EN AGRONOMIA
PRESENTES**

Dado que el Comité dictaminó como **APROBADA** su TITULACIÓN INTEGRAL: OPCIÓN I (TESIS), con el tema **“EVALUACIÓN DE FORMULACIÓN DE SAPONINAS DE AGAVE Y LIMONENO COMO BIOHERBICIDA”** y determinó que da cumplimiento con los requisitos establecidos, se le notifica que tiene la autorización para su impresión definitiva y digitalización.

Sin otro particular quedo de usted.

ATENTAMENTE

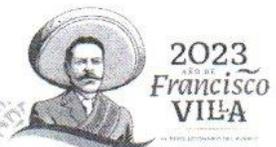
*Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro*

**C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL PLANTEL**



C.c.p.- Coordinación de Apoyo a la Titulación. - Edificio
C.c.p.- Minutario. -


MIBR/AIBR/ALGC/mjhc



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **20/octubre/2022**

No. DE OFICIO: D.SA/DCA/292/2022
ASUNTO: Liberación de proyecto para
la titulación integral.

ICE. ANA LUISA GARCIA CORRALEJO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

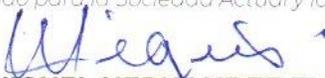
Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	ROCIO ITZAYANA LOPEZ NUÑEZ
NO. DE CONTROL:	18940062
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN AGRONOMIA
NOMBRE DEL PROYECTO:	"EVALUACIÓN DE FORMULACIÓN DE SAPONINAS DE AGAVE Y LIMONENO COMO BIOHERBICIDA"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro


ING. MIGUEL HERNANDEZ FLORES
RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



S.E.P.
TECNM
14DIT0003B
IT TLAJOMULCO
DEPARTAMENTO
CIENCIAS
AGROPECUARIAS

 MC. OSVALDO AMADOR CAMACHO Nombre y firma del asesor	 DRA. MARIA DE JESUS RAMIREZ RAMIREZ Nombre y firma del revisor	 MC. JORGE ARMANDO PERALTA NAVA Nombre y firma del revisor
---	---	--

C.c.p.- Expediente.
PYC/mjhc*



AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico de Tlajomulco (ITTJ) por el apoyo a lo largo de mi formación académica, ya que me apoyo con las áreas, materiales y personal docente que me forjaron para culminar mi carrera.

A mis asesores Osvaldo Amador Camacho quien me aportó los materiales necesarios, así como en conocimiento para llevar a cabo este proyecto, a Jorge Armando Peralta Nava quien me asesoró día a día con el seguimiento de mi informe, agradezco su perseverancia, intereses, dedicación, enseñanza y apoyo a lo largo de este trabajo de investigación y de mi trayectoria en esta carrera.

A mi asesor externo Carlos Jesús Anguiano, Ingeniero agrónomo, quien me aportó de su experiencia y conocimiento en el cultivo del agave, además de facilitarme conocimiento y materiales que se requerían para las pruebas pertinentes en mi trabajo de investigación, agradezco por su interés, paciencia, y apoyo a lo largo de este proyecto.

A cada una de las personas que aportaron de una u otra forma para la realización y finalización de ese trabajo.

Muchas gracias.

DEDICATORIA

A mi familia y mi hermano Luis Omar por apoyarme en este sueño que inició hace 4 años y medio, gracias a su apoyo económico y moral, me alentó a poder lograr estar más cerca de mi meta y sueño en la vida, sin duda mi mejor ejemplo de amor y trabajo duro, gracias por estar conmigo.

A mi compañera Vanessa Zúñiga, por aportarme sus conocimientos, por ayudarme a recordar el motivo principal día a día, que era terminar nuestra carrera y de una u otra forma mejorar un poco lo que nos toca aportar al mundo, además de ser una excelente compañera dentro y fuera de la escuela.

A el Ing. Carlos Anguiano, por apoyarme y complementar mi carrera de la mejor manera, además de ser mi inspiración ya que es un excelente ser humano y uno de los mejores Ingenieros Agrónomos, gracias por las palabras de aliento y fortaleza que sin duda fueron de gran apoyo y valor para alcanzar y cruzar la meta.

A mis amigos, familiares y trabajos laborales que siempre estuvieron apoyándome, siendo pacientes, tolerantes y creyendo siempre en mí, en que podía llegar a realizar mi sueño, además de estar atentos y alentarme de muchas formas en esta travesía.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
ÍNDICE DE TABLAS	V
INDICE DE FIGURAS	VI
RESUMEN	VII
INTRODUCCIÓN	1
III. OBJETIVO GENERAL	3
3.1 Objetivos específicos	3
4. HIPÓTESIS	4
V. REVISIÓN LITERATURA	5
5.1 El agave	5
5.2 Saponinas	5
5.3 Limoneno, (Aceite de limón).	7
5.4 Ácido carboxílico	9
5.5 Ácido acético	9
5.6 Alcohol manitol	10
5.7 Extracción y purificación de las saponinas esteroideas	10
5.8 Actividad bioherbicida de las saponinas	10
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	11
6.1 Selección y colecta del material vegetal	11
6.2 Preparación de las formulaciones	13
6.3 Diseño experimental	14
6.4 Establecimiento del diseño experimental	15
6.5 Tamaño de la parcela útil	15
6.6 Distribución de los tratamientos en campo para pruebas de formulación	15
6.7 Localización del experimento	15
6.8 Aplicación de bioherbicida	16
6.9 Testigos	16
Método de evaluación de la efectividad biológica	18
Evaluación cuantitativa	19
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
Porcentaje de mortandad	25

9.2 Porcentaje de mortandad	25
EVALUACIÓN DE LA FORMULACIÓN	27
EVALUACIÓN DE LA DÓISIS DE BIOHERBICIDA POR LITRO DE AGUA	27
+	29
CONCLUSIONES	29
. BIBLIOGRAFÍA	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Tabla de distribución en campo	27
Tabla 2	Transformación de la escala mundial EWRS a escala proporcional	31
Tabla 3	Formulación 1 y 2 con diferentes porcentajes de adherentes potencializadores	33
Tabla 4	Formulación 3 y 4 con diferentes porcentajes de adherentes potencializadores	34
Tabla 5	Porcentajes de daño según la especie de maleza.	37
Tabla 6	Porcentajes de mortandad según la maleza que se encontraba en el cultivo de agave (<i>Agave tequilana</i> webervar.azul)	38
Tabla 7	Porcentajes de daño según la especie de maleza	25
Tabla 8	Porcentajes de mortandad según la maleza que se encontraba en el cultivo de agave (agave tequilana webervar.azul).....	25
Tabla 9	Análisis de varianza del efecto de los tratamientos evaluados.....	26

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Estructura de una saponina monodesmosídica: (a) furcreastatina y dos saponinas bidesmosídicas; (B) cantalasaponina-1; y (C) timosaponina BII.....	6
FIGURA 2 Selección de hojas de agave	12
FIGURA 3 Extracción de savia por medio de nutribullet	12
FIGURA 4 Filtración de savia	12
FIGURA 5 Extracción de savia	13
FIGURA 6 Formulación en diferentes porcentajes de aceite de limón	13
FIGURA 7 Formulación con 25% de limoneno con 10 ml por 100 ml de agua y ácido carboxílico.....	15
FIGURA 8 Localización del experimento.....	16
FIGURA 9 Aplicación formulación 1 al 25% 10 ml de solución teniendo resultados positivos al tercer día de aplicación.....	16
FIGURA 10 Aplicación de formulación 3 al 25% con 10 ml de solución.....	17
FIGURA 11 Aplicación formulación 4 con 25% y 10 ml de solución.....	17
FIGURA 12 Aplicación en campo de formulación 1 con 25% y 10 ml solución	17
FIGURA 13 Metodo de acción de bioherbicida	20
FIGURA 14 Mayor mortandad en formulación 1.	27
FIGURA 15 Efecto de la dosis de bioherbicida por litro de agua 10ml/100 de agua y 7ml/100 de agua.	27
FIGURA 16 Porcentaje de mortandad por efecto de bioherbicidas contracción de limoneno a T1 25%, T2 35% y T3 45%.	28

RESUMEN

En el control de malezas desde la aparición de la agricultura, el hombre ha intentado con los medios disponibles, reducir su presencia para mejorar el rendimiento de su actividad agrícola.

En la actualidad el principal método de control de las malezas en la agricultura tecnificada, se realiza a base de productos químicos con la consecuente contaminación ambiental (aire, agua y suelo) así como del ser humano (salud) ya que la mayoría de los herbicidas tienen propiedades tanto cancerígenas como mutarogénicas tales como el glifosato, por lo que se busca reducir el impacto ambiental.

Es necesario recalcar los efectos perjudiciales de sustancias tóxicas en el medio ambiente, la sociedad está tomando conciencia de que se deben emplear técnicas, que además de ser efectivas, sean respetuosas con el medio ambiente y propicias al desarrollo de una agricultura sostenible.

Los aceites naturales como limoneno, así como las saponinas esteroidales presentes en los agaves son metabolitos secundarios involucrados en los mecanismos de defensa de las plantas contra el ataque de hongos, bacterias, levaduras y algunos insectos poseen efectos bioherbicidas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto bioherbicida de extractos de limoneno y saponinas mezclados con coadyuvantes en el control de cinco especies de maleza evaluando tres concentraciones de limoneno y 3 dosis de aplicación. Las pruebas y análisis experimentales se realizaron en los laboratorios del Instituto Tecnológico de Tlajomulco. En la evaluación de la actividad las malezas reaccionaron ante los efectos de la dosis más alta de 10 ml por 100 ml y con el 25% de limoneno.

Su totalidad la reproducción de dicha maleza con la menor cantidad de bioherbicida posible. En conclusión, se observó una mayor potencialización con el alcohol manitol ya que su función dentro de la planta es de regulador osmótico que actúa en ella misma, disminuyendo el potencial hídrico dentro de la célula para aumentar

la deshidratación. Esto permite obtener la penetración del metabolito hidrolizando los extractos de saponina dentro de la maleza.

Este estudio se desarrolló en cultivos de agave en la zona de Zapotlanejo, Jalisco, con pruebas de aplicación en la maleza del cultivo de agave (*Agave tequilana* Weber Var. Azul)

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población ha incrementado la búsqueda de procesos y productos que favorezcan una mayor producción de alimentos. Así, el uso de plaguicidas desde la posguerra ha ido ganando terreno en el mercado, con un importante crecimiento cada año. La aplicación de plaguicidas en los cultivos, a partir de la década de 1970, fue sinónimo de modernización, convirtiéndose en un modelo de producción agrícola (CONSEA, 2012). Dentro de los grupos de plaguicidas existentes, la influencia de los herbicidas en el ambiente, especialmente en la microbiota del suelo.

En la aplicación de herbicidas, lo ideal es que sean nocivos solo para el organismo objetivo y además sean biodegradables en el ambiente (CHOWDHURY et al., 2008), sin embargo, cuando se aplican a los cultivos pueden llegar a organismos no objetivo, así como trabajadores rurales. Así, tanto los ecosistemas terrestres como los acuáticos se ven influenciados directa o indirectamente por estas moléculas, afectando la cadena alimentaria y consecuentemente la salud humana (CARNEIRO et al., 2015)

Es necesario recalcar los efectos perjudiciales de sustancias tóxicas en el medio ambiente, la sociedad está tomando conciencia de que se deben emplear técnicas, que además de ser efectivas, sean respetuosas con el medio ambiente y propicias al desarrollo de una agricultura sostenible.

Sin embargo, existen hoy varias razones bien fundamentadas para usar métodos orgánicos o ecológicos. En países subdesarrollados, donde la mano de obra y la tierra son los factores más disponibles de la producción, la agricultura ecológica representa una importante alternativa para el desarrollo y progreso del campo agropecuario, así como la principal vía para lograr productos más sanos y con una mejor demanda comercial

Por otro lado, se ha estimado que sin el control de malezas, las pérdidas de rendimiento de los cultivos podrían aumentar hasta en un 70% .

Por estas razones, los trabajos de investigación sobre alternativas novedosas, sostenibles, eficaces y más respetuosas con el medio ambiente para el manejo de malezas han experimentado un incremento considerable en los últimos años. En este sentido, las saponinas son algunos de los productos que se pueden encontrar en la naturaleza con una composición química y una función biológica destacable. (Zaynab, M 2021).

III. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto bioherbicida de diferentes formulaciones a base de saponinas de agave y su mezcla con extractos de limoneno a diferente concentración, así como el potencializado para dicha fórmula.

3.1 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de saponinas de agave como bioherbicidas
- Evaluar el efecto de diferentes formulaciones bioherbicidas sobre el control de las diferentes malezas de hoja ancha y hoja angosta a base de saponinas y aceite de limón.
- Evaluar el efecto bioherbicida de diferentes mezclas con posibles potencializadores, aceite mineral, adherente Break Thuk, ácido acético, ácido carboxílico, ácido láurico, alcohol manitol y bacterias, en la eficacia de control de malezas.
- Realizar el registro mediante porcentaje de mortandad de maleza para describir qué ingrediente potencializar la fórmula.

4. HIPÓTESIS

H1= La utilización de bioherbicidas no funciona por sí sola como herbicida en ninguna especie vegetal.

H0=La utilización de bioherbicidas elaborados con saponinas de agave con aceite de limón y un coadyuvante funciona para el control a una cierta dosis como bioherbicida ante malezas de hoja ancha y angosta.

V. REVISIÓN LITERATURA

5.1 El agave

El género *Agave* pertenece a la familia *Agavaceae* que es endémica del continente americano cuenta con 200 especies, de las cuales 150 se encuentran en México, es decir el 75% del total. Sólo 116 especies son endémicas o exclusivas de nuestro territorio, de las cuales alrededor de 15 especies de agaves son considerados como “agaves mezcaleros”, distribuyéndose en 24 estados de la República Mexicana. En un México tiene una de las más importantes y mayores biodiversidades en el mundo, en el caso del género agave, los estudios han demostrado que estas contienen compuestos químicos, como: saponinas, esteroides, terpenos y vitaminas . Pero estos estudios no pueden limitar la continua labor del estudio sobre esta planta ya que este género es abundante y diverso. Así vemos que solamente en México se encuentran aproximadamente 125 especies . En el caso de *Agave americana*, se hicieron estudios ya que tienen una variedad de usos diuréticos, laxantes y antiescorbúticos. En 1991, en el departamento de química de la universidad de Dheli, India, se hicieron investigaciones fitoquímicas, las cuales revelaron la presencia de glucósido espirostanol, saponinas, saponinas esteroidales y derivados de tetratriacontanol

5.2 Saponinas

Las saponinas están presentes en los agaves son metabolitos secundarios involucrados en los mecanismos de defensa de las plantas contra el ataque de hongos, bacterias, levaduras y algunos insectos. En los procesos de fermentación de las bebidas de agave, las saponinas inhiben el crecimiento de algunas levaduras, ocasionando una reducción en los rendimientos de producción. Estos mecanismos de inhibición no están del todo entendidos, sólo algunos estudiosos

han realizado con los esteroides de la membrana celular. Su presencia ha sido reportada en más de 100 familias de plantas. Martínez, M. A. (2001).

Las saponinas son glicósidos que se encuentran distribuidos ampliamente en las plantas, la estructura química de las saponinas consta de un esqueleto hidrofóbico (sapogenina o aglicona) y una cadena de carbohidratos hidrofílica formada por unidades de monosacárido unidas por un enlace glucosídico. (Fig.1)

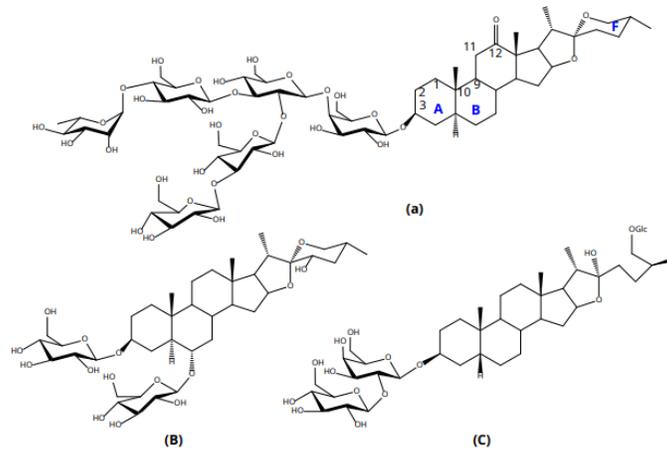


FIGURA 1 Estructura de una saponina monodesmosídica: (a) furcreastatina y dos saponinas bidesmosídicas; (B) cantalasaponina-1; y (C) timosaponina BII.

Dependiendo de su estructura de aglicona, se pueden clasificar en dos grupos principales: saponinas esteroidales (C27) y triterpenoides (C30). (Fitoquímica. Anal.2021, 32). Las saponinas exhiben propiedades antimicrobianas, antifúngicas, insecticidas y antialimentarias, lo que les permite actuar como una barrera química contra patógenos potenciales y, por lo tanto, representan un recurso valioso para el desarrollo prospectivo de nuevas formas de agroquímicos.

Las saponinas esteroidales se encuentran principalmente en monocotiledóneas, mientras que las saponinas terpénicas se encuentran especialmente en dicotiledóneas (Dueñas 2016)

La gran diversidad estructural de las saponinas se refleja en sus diferentes propiedades biológicas y fisicoquímicas, y en el uso que se hace de ellas en jabones, antimicrobianos, anticancerígenos y una comprensión detallada de las

Las saponinas con una cadena de azúcares unida al carbono-3 tienen gran actividad microbiciada. (1978; Simons, 2003; Simons et al., 2005; Steel et al., 1988). Concentraciones de saponina, son capaces de inhibir el crecimiento de los hongos *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea* (Pavlik et al., 2000).

El descubrimiento de que las saponinas poseen un amplio rango de actividad bioactiva, como lo es su actividad anti-insectos, anti-hongos, antiviral, anti-levadura, anti-cáncer, antitumoral, entre otras. No solo limitó su uso tradicional, sino que se comenzó a buscar aplicaciones principalmente en la industria farmacéutica. Los jugos de las hojas de los agaves (*Agave difformis*, *A. lechuguilla*, *A. toumeyana*, *A. vilmoriniana*, *A. schott*, *A. durangensis*, *A. salmiana*, *A. tequilana*, *A. angustifolia*, *A. cupreata*, por ejemplo) presentan saponinas de carácter esteroideal, Dueñas, A. C. (2016).

5.3 Limoneno, (Aceite de limón).

Es un producto natural que se extrae del aceite de la piel de las frutas cítricas (limón, naranja, etc.). Su fórmula molecular es $C_{10}H_{16}$ y masa molecular de $136.238 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Es un líquido incoloro o amarillo pálido. Su nombre IUPAC es el 1-metil-4-(prop-1-en-2-il)-ciclohexeno. Presenta el olor característico el naranjas y limones. Es un compuesto orgánico de la familia de los terpenos. Es utilizado como insecticida para repeler o matar hormigas, pulgones, cochinillas, moscas, ácaros, cucarachas, avispas, rosales, plantas ornamentales... ya que no es tóxico para los seres humanos y animales domésticos, ni perjudicial para la jardinería, plantas de interior ni para el medio ambiente, por lo que se puede usar en hogares, oficinas y colegios. Morales, G. M. G. (2015).

El limoneno es una sustancia natural que se extrae del aceite de las cáscaras de los cítricos y que da el olor característico a los mismos. Pertenece al grupo de los terpenos, en concreto a de los limonoides, que constituyen una de las más amplias clases de alimentos funcionales y fitonutrientes, funcionando como antioxidantes. Su principal aplicación hoy día es como disolvente industrial

biodegradable. Se utiliza también en Síntesis Orgánica para obtener otros compuestos químicos.

La nanotecnología ha surgido como un avance tecnológico que puede transformar sectores de la agricultura, proporcionando herramientas para la detección rápida de enfermedades en los cultivos, así como mejorar la capacidad de las plantas para absorber los nutrientes y crecer con mayor velocidad. Con la NT se abre un amplio abanico de oportunidades en la agricultura para producir agroproductos como nanofertilizantes, nanopesticidas, nanoherbicidas y nanosensores, que permitirán incrementar el rendimiento de alimentos de manera sustentable y reduciendo el impacto ambiental. Se espera que esta revisión crítica pueda proporcionar la información básica sobre los antecedentes en la investigación agronano tecnológica, que permita avanzar con la experimentación en las aplicaciones de las nanopartículas en la agricultura ecológica. (El Asbahani A, 2020) La nanoencapsulación representa un enfoque factible y eficiente para aumentar la estabilidad física de los aceites esenciales, evitar su degradación por interacción con el medio ambiente y modular su liberación. Particularmente, las nanopartículas poliméricas representan sistemas de liberación tópicos de agentes antioxidantes. (El Asbahani A, 2020)

Encapsulación de aceites esenciales (AE) específicamente, la nanoencapsulación de AE representa una estrategia cada vez más utilizada debido a su aplicación como sistemas de liberación de compuestos. Las nanopartículas poliméricas (NP)

Se definen como sistemas coloidales con un tamaño inferior a 1 μm , en donde el activo puede estar disuelto, atrapado, encapsulado o unido a la matriz polimérica. Las NP son estables debido a la rigidez de su matriz polimérica y a la capacidad de mantener su estructura por largos periodos de tiempo. (Springer, 2011. p 3-35)

Las NP, debido a su tamaño y características fisicoquímicas, presentan diferentes ventajas, entre las cuales se pueden encontrar:

- Protección de los activos sensibles a la degradación
- Liberación controlada de las sustancias activas encapsuladas y
- Localización de órganos específicos (disminución de la toxicidad)

Los nanomateriales han sido ampliamente utilizados en productos cosméticos ya que pueden facilitar su interacción con la piel promoviendo una mayor difusión a partir del vehículo cosmético hasta la capa superficial de la piel. Además su nanoencapsulación, evita la inestabilidad química o física de los activos asegurando su actividad biológica.

El limoneno

5.4 Ácido carboxílico

La importancia de los ácidos carboxílicos está en su relación con el metabolismo del nitrógeno. Estos ácidos contribuyen en la formación de casi todos los tejidos, son componentes esenciales en muchas sustancias vegetales de trascendencia; se encuentran en las vitaminas que actúan como grupos funcionales de las enzimas importantes en la respiración, en la molécula de los ácidos nucleicos y en los alcaloides. De igual manera, se reporta que la aplicación de estos ácidos ha aumentado la concentración de clorofilas, logrando incrementar la fotosíntesis en plantas estresadas (Bahari et al., 2013).

5.5 Ácido acético

El vinagre es el producto final de una fermentación acética realizada con cualquier líquido de una fruta. El ingrediente activo es el ácido acético, un químico encontrado en todos los organismos vivos. Mucha gente está familiarizada con el ácido acético en forma de vinagre para su uso doméstico (EPA, 2001).

Muchos herbicidas que controlan algunos grupos de malezas tienen en su estructura química ácido acético. No hay riesgo en su uso como pesticida si se realiza de acuerdo a los niveles permitidos para aplicaciones. Sin embargo, al igual que el resto de productos químicos usados en la agricultura, se necesita tomar las medidas de protección para su uso (EPA, 2001).

El vinagre (ácido acético) fue registrado como ingrediente activo en 1997, hasta marzo de 2001 había dos productos comerciales registrados para la venta por las casas comerciales: ECOVAL Technologies y San Gabriel Labs. cuyos niveles de acidez fluctúan entre 5 y 20% que son los permitidos en la agricultura orgánica

(EPA, 2001). La presentación como se encuentra formulado este herbicida orgánico varía de acuerdo a las diferentes casas comerciales, cuya efectividad está probada frente a otros herbicidas convencionales.

5.6 Alcohol manitol

El manitol es un poliol (alcohol de azúcar) que se utiliza ampliamente en las industrias de alimentos y farmacéutica debido a sus propiedades funcionales únicas. El manitol tiene un bajo contenido calórico. El manitol es apto para la ingesta y se ha utilizado en forma segura alrededor del mundo durante más de 60 años. El manitol se encuentra abundantemente en la naturaleza, especialmente en los exudados de los árboles, en algas marinas y en hongos frescos. Es un isómero del sorbitol y hoy en día se produce típicamente mediante la hidrogenación de jarabes de glucosa especiales.

5.7 Extracción y purificación de las saponinas esteroideas

En los métodos de extracción de las saponinas esteroideas, usualmente se obtiene un extracto en polvo seco, que posteriormente es diluido en metanol, etanol o en una solución con 50% de etanol o metanol a temperatura ambiente. Existen técnicas convencionales de extracción como la maceración, Soxhlet, extracción por reflujo, y técnicas no convencionales, amigables con el ambiente, como la extracción por ultrasonido, microondas y extracción acelerada de solventes (ACE). Usualmente el extracto es concentrado, y fraccionado con acetato de etilo y n-butanol. Para su separación y purificación se utiliza comúnmente la cromatografía en capa fina (TLC) con gel de sílice usando como fase móvil cloroformo y metanol o cloroformo, metanol y agua. Actualmente, para hacer una extracción de la mezcla cruda de las saponinas se utiliza una columna compuesta por una resina de dietilbenceno con etilbenceno (Dianion HP-20), usualmente la saponina es obtenida en el eluyente que va de 70-100% de metanol. Una vez fraccionado los compuestos en la columna, se emplea una TLC preparativa para poder separar las saponinas de forma individual (14).

5.8 Actividad bioherbicida de las saponinas

Las plantas producen las saponinas como medio de protección, el mecanismo por el cual estos compuestos actúan como medio de defensa no es conocido del todo. Sin embargo, ha sido propuesto en diferentes modelos celulares que las saponinas interactúan con los esteroides de la membrana plasmática originando un incremento en la permeabilidad y eventualmente en la formación de poros originando el escape de los contenidos celulares

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Selección y colecta del material vegetal

Se seleccionaron plantas sanas de agave (*Agave americana* L.) de cuatro años de edad, presentes en las áreas de la Institución Tecnológica de Tlajomulco, localizado Km. 10 Carretera Tlajomulco-San Miguel Cuyutlán, Cto. Metropolitano Sur, 45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal. Las especies se identificaron taxonómicamente en el Herbario del Instituto. Se colectaron 338 gramos de hojas de cada especie entre las 8:00 y las 9:00 de la mañana, en febrero del 2022. Las mismas se lavaron con agua corriente y destilada para eliminar las partículas de polvo, enseguida se hicieron cortes para poder realizar una extracción de jugo de agave un molino y una prensa pequeña, recolectamos toda la savia que pudimos de está extracción y agregamos ácido carboxílico para prolongar el tiempo de vida de anaquel.

Posteriormente se secaron en una estufa (Boxun, China) a 45 °C y se trituraron en un molino eléctrico hasta pulverizar.



FIGURA 2 Selección de hojas de agave



FIGURA 3 Extracción de savia por medio de nutribullet



FIGURA 4 Filtración de savia

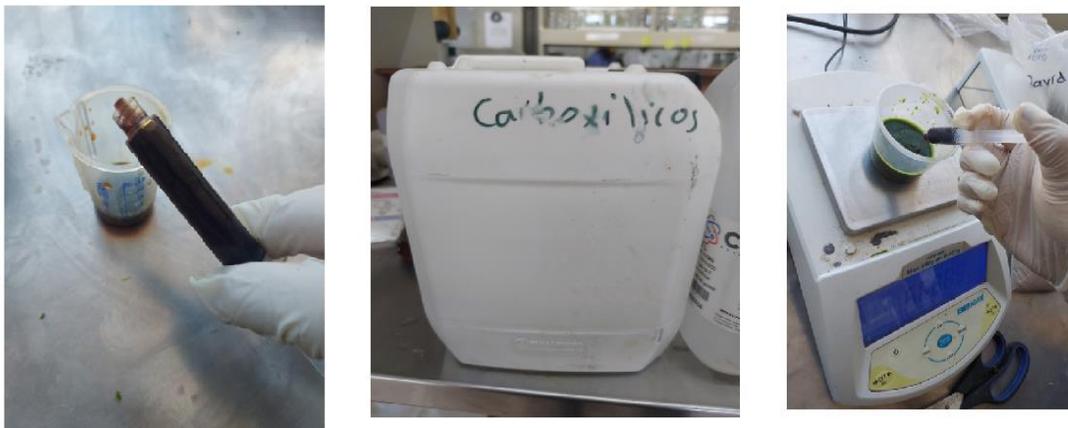


FIGURA 5 Extracción de savia

6.2 Preparación de las formulaciones

Se realizaron extractos con 3 dosis diferentes de aceite de limón, sus concentraciones fueron al 25%, 35% y 45% esto para corroborar el método de acción o la efectividad que podía dar con diferentes dosis. Los extractos se conservaron a temperatura ambiente para las determinaciones químicas y los ensayos de actividad biológica.



FIGURA 6 Formulación en diferentes porcentajes de aceite de limón

6.3 Diseño experimental

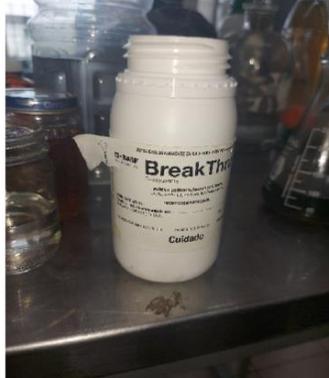
Se utilizó un diseño experimental en bloques a azar utilizando 5 especies de maleza como bloque

Tabla 1 Malezas más frecuentes de la zona

I	<i>Cynodon dactylon</i> (GRAMA)
II	<i>Sorghum halepense</i> (JOHNSON)
III	<i>Argemone spp</i> (CHICALOTE)
IV	<i>Trifolium</i> (TREBOL)
V	<i>Solanum rostratum</i> (MALA MUJER)

Se realizaron 7 diferentes formulaciones realizando diferentes mezclas de productos en donde se evaluó tres concentraciones de limoneno a 25%, 35% y 45% y dos niveles de bioherbicida a 7 ml y 10 ml por litro de agua.

La determinación cualitativa se realizó mediante las composiciones de los



para el uso de producto con la mayor eficacia



FIGURA 7 Formulación con 25% de limoneno con 10 ml por 100 ml de agua y ácido carboxílico.

6.4 Establecimiento del diseño experimental

El trabajo de investigación se llevó a cabo en una plantación comercial de agave (*Agave tequilana* Weber var. azul) y cuenta con un año y nueve meses de plantado, en El Durazno, San Joaquín Zorrillos, localidad de Zapotlanejo, Jalisco. El trabajo se desarrolló en parcela útil de 900 plantas de agave en una superficie aproximadamente 1,500 m².

6.5 Tamaño de la parcela útil

Cada parcela consistió de 1 línea de plantas con 3 metros de distancia hacia líneas adyacentes de plantas (6 metros) por 8 metros de largo (48 m²), eliminando 1 metro de orillas.

6.6 Distribución de los tratamientos en campo para pruebas de formulación tres DOSIS DE LIMONENO 25,35 Y 45%; 2 DOSIS DE APLICACIÓN 7 Y 10 ML POR 100 ML.

6.7 Localización del experimento

El proyecto se realizar en la localidad de el durazno, cerca de san Joaquín zorrillos, municipio de Zapotlanejo, Jalisco



FIGURA 8 Localización del experimento

6.8 Aplicación de bioherbicida

La aplicación de los tratamientos a base del bioherbicida saponinas y nano partículas poliméricas, pos-emergente sobre un suelo presencia de maleza y del tipo franco arcilloso con un contenido de agua conforme a la dosis por aplicación y un volumen de agua fue de 100 ml por aplicación para pruebas y 15 lts para aplicación en campo

6.9 Testigos



FIGURA 9 Aplicación formulación 1 al 25% 10 ml de solución teniendo resultados positivos al tercer día de aplicación



FIGURA 10 Aplicación de formulación 3 al 25% con 10 ml de solución



FIGURA 11 Aplicación formulación 4 con 25% y 10 ml de solución



FIGURA 12 Aplicación en campo de formulación 1 con 25% y 10 ml

solución



Método de evaluación de la efectividad biológica

Evaluación cualitativa. Se realizarán evaluaciones visuales del control de especies de maleza a los 10, 20, 30 y 45 días después de la aplicación del bioherbicidas en forma aleatoria y visual dentro de la parcela útil (una línea de plantas con 3 metros hacia las líneas adyacentes de plantas y de 8 metros de largo) de cada unidad experimental.

Para la evaluación visual se emplea la escala de control visual propuesta por la EWRS (European Weed Research Society) (anexo) tomando como referencia el testigo limpio y el testigo sin control (enhierbado).

Tabla 2 . Transformación de la escala mundial EWRS a escala proporcional

Valor	Efecto sobre el cultivo	Control de maleza (%)	Toxicidad en el cultivo (%)
1	Sin efecto	99.0 – 100	0.0 - 1.0
2	Síntomas muy ligeros	96.5 – 99.0	1.0 – 3.5
3	Síntomas ligeros	93.0 – 96.5	3.5 – 7.0
4	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento	87.5 – 93.0	7.0 – 12.5
5	Daño medio	80.0 – 87.5	12.5 – 20.0
6	Daños elevados	70.0 – 80.0	20.0 – 30.0
7	Daños muy elevados	50.0 – 70.0	30.0 – 50.0
8	Daños severos	1.0 – 70.0	50.0 – 99.0
9	Muerte completa	0.0 – 1.0	99.0 - 100

Evaluación cuantitativa

Se realizarán conteos de individuos maleza por especie a los 20 y 45 dda en dos puntos diferentes seleccionados al azar en cada parcela útil dentro de un cuadro de

0.50 x 0.50 m (0.25 m²) como base para la cuantificación de la eficacia de los tratamientos con relación al testigo enhebrado (sin control).

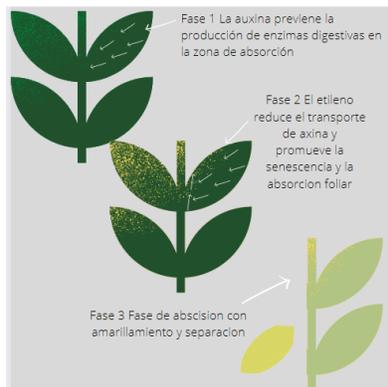


FIGURA 13 Método de acción de bioherbicidas

Tabla 3 FORMULACION 1, Y 2 CON DIFERNTES PORCENTAJES DE ADHERENTES POTENCIALIZADORES

FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS
F1 SOLUCION AL 25% 7 ML	SOLUCION AL 25%	7	F1 SOLUCION AL 25% CON 5ML	SOLUCION AL 25%	5	F2 SOLUCION AL 25% CON 10 ML	SOLUCION AL 25%	10	F2 SOLUCION AL 25% CON 7ML	SOLUCION AL 25%	7
	ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5		ACIDO ACETICO	10		ACIDO ACETICO	7
	ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5		AGUA	80		AGUA	86
	AGUA	79		AGUA	85						
F1 SOLUCION AL 35% 7 ML	SOLUCION AL 35%	7	F1 SOLUCION AL 35% CON 5ML	SOLUCION AL 35%	5	F2 SOLUCION AL 35% CON 10 ML	SOLUCION AL 35%	10	F2 SOLUCION AL 35% CON 7ML	SOLUCION AL 35%	7
	ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5		ACIDO ACTICO	10		ACIDO ACTICO	7
	ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5		AGUA	80		AGUA	86
	AGUA	79		AGUA	85						
F1 SOLUCION AL 45% 7 ML	SOLUCION AL 45%	7	F1 SOLUCION AL 45% CON 5ML	SOLUCION AL 45%	5	F2 SOLUCION AL 45% CON 10 ML	SOLUCION AL 45%	10	F2 SOLUCION AL 45% CON 7ML	SOLUCION AL 45%	7
	ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5		ACIDO ACETICO	10		ACIDO ACETICO	7
	ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5		AGUA	80		AGUA	86
	AGUA	79		AGUA	85						

Tabla 4 FORMULACION 3 Y 4 CON DIFERNTES PORCENTAJES DE ADHERENTES POTENCIALIZADORES

FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS	FORMULACIÓN		DOSIS
F3 SOLUCION AL 25% % CON 10ML	SOLUCION AL 25%	10	F3 SOLUCION AL 25% % CON 7ML	SOLUCION AL 25%	7	F4 SOLUCION AL 25% CON 10 ML	SOLUCION AL 25%	10	F4 SOLUCION AL 25% CON 7 ML	SOLUCION AL 25%	7
	ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7
	ACIDO ACETICO	10		ACIDO ACETICO	7		AGUA	80		AGUA	86
	AGUA	70		AGUA	79						
F3 SOLUCION AL 35% % CON 10ML	SOLUCION AL 35%	10	F3 SOLUCION AL 35% % CON 7ML	SOLUCION AL 35%	7	F4 SOLUCION AL 35% CON 10 ML	SOLUCION AL 35%	10	F4 SOLUCION AL 35% CON 7 ML	SOLUCION AL 35%	7
	ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7
	ACIDO ACETICO	10		ACIDO ACETICO	7		AGUA	80		AGUA	86
	AGUA	70		AGUA	79						
F3 SOLUCION AL 45% % CON 10ML	AGUA	70	F3 SOLUCION AL 45% % CON 7ML	SOLUCION AL 45%	7	F4 SOLUCION AL 35% CON 10 ML	ACIDO CARBOXILICO	10	F4 SOLUCION AL 35% CON 7 ML	ACIDO CARBOXILICO	7
	SOLUCION AL 45%	10		ACIDO CARBOXILICO	7		AGUA	80		AGUA	86
	ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO ACETICO	7		SOLUCION AL 45%	10		SOLUCION AL 45%	7
	ACIDO ACETICO	10		AGUA	79						

Tabla 5 FORMULACION 5 Y 6 CON DIFERNTES PORCENTAJES DE ADHERENTES POTENCIALIZADORES

FORMULACIÓN		D	FORMULACIÓN		D	FORMULACIÓN		D	FORMULACIÓN		D
F5 SOLUCION N AL 25% CON 10 ML	SOLUCION AL 25%	10	F6 SOLUCIO N AL 25% CON 10ML	SOLUCION AL 25%	10	F6 SOLUCIO N AL 25% CON 7ML	SOLUCION AL 25%	7	F6 SOLUCIO N AL 25% CON 5ML	SOLUCION AL 25%	5
	ACIDO CARBOXILI CO	10		ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5
	ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5
	BACTERIA	10		BREAK THRU	10		BREAK THRU	7		BREAK THRU	5
	AGUA	60		AGUA	60		AGUA	7 2		AGUA	8 0
F5 SOLUCIO N AL 35% CON 10 ML	SOLUCION AL 35%	10	F6 SOLUCIO N AL 35% CON 10ML	SOLUCION AL 35%	10	F6 SOLUCIO N AL 35% CON 7ML	SOLUCION AL 35%	7	F6 SOLUCIO N AL 35% CON 5ML	SOLUCION AL 35%	5
	ACIDO CARBOXILI CO	10		ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5
	ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5
	BACTERIA	10		BREAK THRU	10		BREAK THRU	7		BREAK THRU	5
	AGUA	60		AGUA	60		AGUA	7 2		AGUA	8 0
F5 SOLUCIO N AL 45% CON 10 ML	SOLUCION AL 45%	10	F6 SOLUCIO N AL 45% CON 10ML	SOLUCION AL 45%	10	F6 SOLUCIO N AL 45% CON 7ML	SOLUCION AL 45%	7	F6 SOLUCIO N AL 45% CON 5ML	SOLUCION AL 45%	5
	ACIDO CARBOXILI CO	10		ACIDO CARBOXILICO	10		ACIDO CARBOXILICO	7		ACIDO CARBOXILICO	5
	ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	10		ALCOHOL MANITOL	7		ALCOHOL MANITOL	5
	BACTERIA	10		BREAK THRU	10		BREAK THRU	7		BREAK THRU	5
	AGUA	60		AGUA	60		AGUA	7 2		AGUA	8 0

Tabla 6 FORMULACION 7 CON DIFERNTES PORCENTAJES DE ADHERENTES POTENCIALIZADORES

FORMULACIÓN		DOSIS
F7 SOLUCION AL 25% CON 10ML	SOLUCION AL 25%	10
	ACIDO CARBOXILICO	10
	ALCOHOL MANITOL	10
	ACIDO LAURICO	10
	AGUA	60
F7 SOLUCION AL 35% CON 10ML	SOLUCION AL 35%	10
	ACIDO CARBOXILICO	10
	ALCOHOL MANITOL	10
	ACIDO LAURICO	10
	AGUA	60
F7 SOLUCION AL 45% CON 10ML	SOLUCION AL 45%	10
	ACIDO CARBOXILICO	10
	ALCOHOL MANITOL	10
	ACIDO LAURICO	10
	AGUA	60

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1

Porcentaje de mortandad

	F1 25% 10 ML	F1 35% 10ML	F1 45% 10ML	F2 25% 10ML	F2 35% 10ML	F2 45% 10ML	F3 25% 10ML	F3 35% 10ML	F3 45% 10ML	F3 25% 7ML	F3 35% 7ML	F3 45% 7ML
HOJA ANGOSTA												
<i>Cynodon dactylon</i> (GRAMA)	80%	72%	68%	35%	30%	25%	22%	19%	16%	14%	12%	10%
<i>Sorghum halepense</i> (JOHNSON)	70%	63%	60%	30%	20%	22%	20%	18%	15%	13%	11%	9%
HOJA ANCHA												
<i>Argemone munita</i> (CHICALOTE)	85%	75%	73%	20%	30%	16%	17%	15%	12%	11%	10%	8%
<i>Trifolium</i> (TREBOL)	90%	76%	76%	30%	27%	23%	15%	13%	11%	9%	8%	6%
<i>Solanum rostratum</i> (MALA MUJER)	96%	86%	81%	15%	13%	11%	18%	16%	13%	12%	10%	8%

Porcentajes de daño según la especie de maleza

Tabla 5 Porcentajes de daño según la especie de maleza.

9.2 Porcentaje de mortandad

Tabla 7 Porcentajes de mortandad según la maleza que se encontraba en el cultivo de agave (agave tequilena webbervar.azul)

	F4 25 % 10 ML	F4 35% 10M L	F4 45 % 10M L	F4 25 % 7M L	F4 35 % 7M L	F4 45 % 7M L	F5 25 % 10 ML	F5 35% 10M L	F5 45% 10M L	F6 25 % 10 ML	F6 35% 10M L	F6 45% 10M L	F6 25 % 7ML	F6 35 % 7M L	F6 45 % 7M L	F7 25% 10M L	F7 35% 10M L	F7 45 % 10 ML
<i>Cynodon dactylon</i> (GRAMA)	75%	66%	60%	56%	14%	14%	7%	6%	2%	81%	71%	63%	60%	54%	48%	19%	17%	15%
<i>Sorghum halepense</i> (JOHNSON)	81%	71%	65%	60%	13%	13%	9%	7%	1%	75%	67%	60%	51%	45%	47%	18%	15%	13%
HOJA ANCHA																		
<i>Argemone munita</i> (CHICALOTE)	60%	88%	80%	11%	11%	11%	8%	1%	3%	86%	77%	69%	58%	52%	46%	15%	13%	11%
<i>Trifolium</i> (TREBOL)	99%	99%	90%	9%	9%	9%	9%	8%	4%	90%	81%	72%	359 %	53%	43%	12%	14%	12%

<i>Solanum rostratum</i> (MA LA MUJER)	85 %	82%	75%	12 %	12 %	12 %	2%	4%	3%	70 %	65%	58%	49%	44 %	40 %	15%	12%	10 %
--	------	-----	-----	------	------	------	----	----	----	------	-----	-----	-----	------	------	-----	-----	------

Tabla 8 Análisis de varianza del efecto de los tratamientos evaluados
Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: **MORTANDAD**

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Modelo	22	91490.7152	4158.6689	17.49	<.0001
Error	142	33769.3212	237.8121		
Total corregido	164	125260.0364			

Origen	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
formula	6	83309.02970	13884.83828	58.39	<.0001
CONC	2	5732.76364	2866.38182	12.05	<.0001
BLO	4	272.27879	68.06970	0.29	0.8865
formula*CONC	10	2176.64303	217.66430	0.92	0.5211

Como se puede apreciar en la tabla 9 se encontró diferencias altamente significativas para el factor concentración de limoneno y el tipo de formulación, y se observa un coeficiente de variación del 11.7% y una r-cuadrada de 0.79

R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE	Media de MORTANDAD
0.796123	11.74241	7.384669	62.88889

EVALUACIÓN DE LA FORMULACIÓN

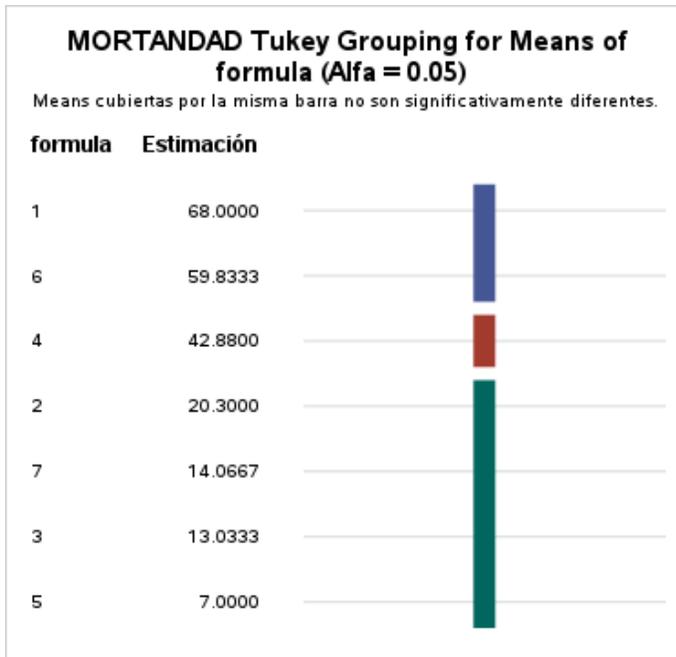


FIGURA 14 Efecto de las formulación en mortandad de maleza..

Como se puede apreciar en la Figura 14 donde la mayor mortandad se obtuvo con la fórmula 1 y fórmula 6 en la que contienen saponinas de agave y manitol con una media de 86% manitol y 10% de ácidos carboxílicos y le siguió la fórmula 6 con 59.8% usando 10 ml por litro manitol y saponinas 25% de limoneno más 10 ml de ácido carboxílico.

EVALUACIÓN DE LA DÓSIS DE BIOHERBICIDA POR LITRO DE AGUA

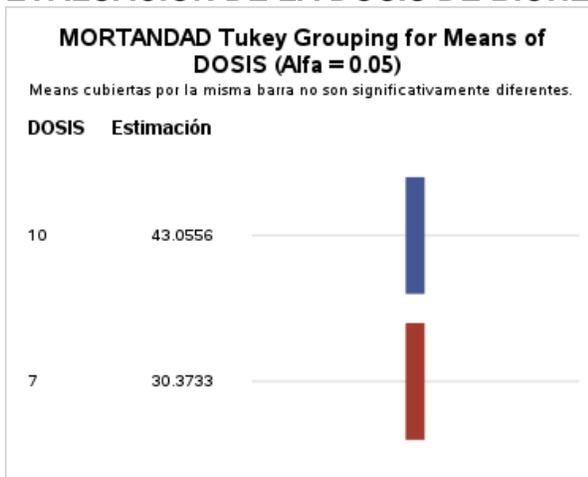


FIGURA 15 Efecto de la dosis de bioherbicidas por litro de agua 10ml/100 de agua y 7ml/100 de agua.

Como se puede apreciar en la figura 15 la dosis de 10 ml tuvo mayor efecto bioherbida con 43 % de daño y con 7 ml/100 ml de agua el daño fue menor con 30% de mortandad.

Como se puede apreciar en la siguiente figura el mejor tratamiento con mayor mortandad fue el de limoneno de 25%, siendo superior al 35 y 45% por lo que tiene mejor resultado el limoneno a concentraciones menores.

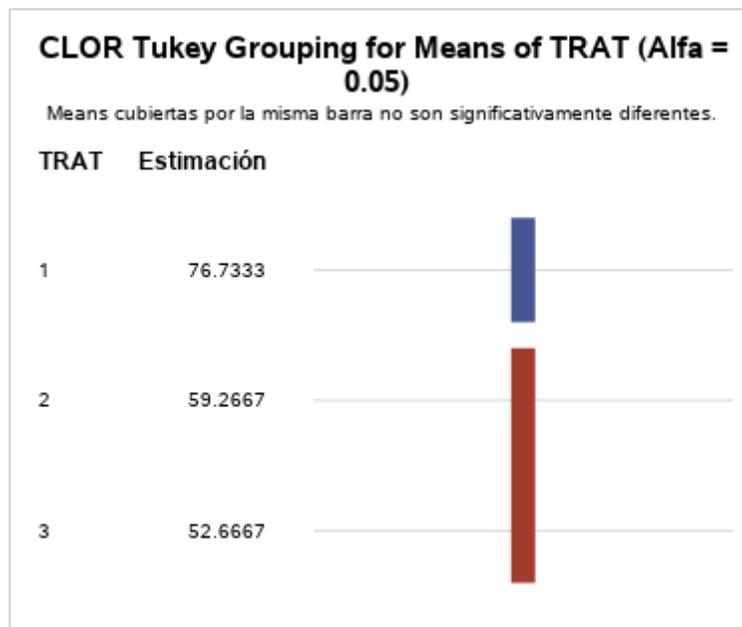


FIGURA 16 Porcentaje de mortandad por efecto de bioherbicidas contracción de limoneno a T1 25%, T2 35% y T3 45%.

+

CONCLUSIONES

Se evaluaron 7 diferentes formulaciones de bioherbicidas mostrando las mezclas con limoneno junto con manitol y saponinas de agave la fórmula 6, con un 68% de mortandad; igualmente los mayores porcentajes de mortandad de maleza con 76% en promedio se obtuvo con la mezcla el limoneno al 25% y tuvo sinergia con el manitol y saponinas de agave.

La dosis de bioherbicidas funciona mejor a mayor concentración de 10 ml/100 ml de agua por lo que es necesario hacer diferentes pruebas para disminuir esta dosis.

Se evaluó 3 dosis, la fórmula que contenía la formulación al 25% de limoneno, por lo que es necesario hacer diferentes mezclas donde se pueda evaluar disminuyendo esta concentración para evaluaciones futuras.

La mezcla de ácidos carboxílicos, manitol y limoneno junto con saponinas al 25% 10 ml por litro fue el mejor tratamiento logrando 85% de efectividad, su método de acción es como bioherbicidas y su mayor porcentaje de mortandad es en malezas jóvenes de hojas angostas.

La aplicación de ácido acético dentro las formulaciones no tuvo las respuestas esperadas, se observó que el manitol logro mejorar la eficacia así como la sinergia con las saponinas de agave y limoneno.

5. BIBLIOGRAFÍA

Chen, T.; Zhu, H.; Ke, D.; Cai, K.; Wang, C.; Gou, H.; Hong, Z.; Zhang, Z. Una MAP quinasa quinasa interactúa con SymRK y regula la organogénesis de nódulos en *Lotus japonicus*. *Plant Cell* **2012**, págs. 24, 823–838. [

Dai, Z.; Wang, J.; Ma, X.; Sol, J.; Tang, F. Evaluación de laboratorio y campo de la actividad fitotóxica de *Sapindus mukorossi* Extracto de pulpa de Gaertn e identificación de una sustancia fitotóxica. *Moléculas* **2021**, *26*, 1318. [Referencia cruzada] [PubMed]

Dueñas, A. C. (2016). Presencia de saponinas en *Agave* spp. de México. *BIOZ Revista de Divulgación UACB*, *1*(1).

El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* 2015;483:220–243.

EPA (Environmental Protection Agency), 2000. Office of Pesticides Programs: what are biopesticides (en línea). Washington, United States of America. Consultado 12 de feb. 2001. Disponible en: http://www.epa.gov/biopesticides/what_are_biopesticides.htm

EPA (Environmental Protection Agency), 2001 a. Office of Pesticides Programs: biopesticides fact sheet (en línea). Washington, United States of America. Consultado 15 de feb. 2001. Disponible en : <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/factsheets/fs044001e.htm>

FAO, 2000. “Guías sobre requisitos mínimos para equipos de aplicación de plaguicidas agrícolas” (documento web). S/F. http://www.fao.org/ag/AGS/Agse/guide_sp/cvo12.htm (Consulta el 20 de enero del 2003).

Fraser, R.P. and Eisenklam, P. 1966. Atomization and the drop size of sprays. *Trans. Inst. Chem. Engineers.* *34*, 294-319.

Fuentes y Leroux, 2000; Análisis genético de la tolerancia al herbicida Rimsulfuron en el maíz (*Zea mays* L.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.

Friedman, M. (2002). Tomato glycoalkaloids: Role in the plant and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(21), 5751-5780.

Fujiwara, Y., Takaki, A., Uehara, Y., Ikeda, T., Okawa, M., Yamauchi, K., Ono, M., Yoshimitsu, H. and Nohara, T. (2004). Tomato steroidal alkaloid glycosides, esculeosides A and B, from ripe fruits. *Tetrahedron*, *60*(22), 4915-4920.

- Ghisalberti, E. L. (2006). Steroidal glycoalkaloids: Isolation, structure, analysis, and biosynthesis. *Natural Product Communications*, 1(10), 859-884.
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic And Necrotrophic Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43(1), 205-227.
- Govrin, E. and Levine, A. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic next term pathogen *Botrytis cinerea*. *Current biology*, 10(13), 751-757.
- González Contreras R. I., 2000. Diseño y evaluación de un sistema de aspersión autopropulsado de alto despeje. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana. Instituto de Ingeniería. H. Veracruz, Veracruz, México
- Hall, F.M. y col, 1978. Effects of spray droplets size, dosage and solution per ha rates on mortality of two-spotted spitter mite. *Journal of Economical Entomology* 70 (2): 185-186.
- Hernández, C. 1985. Determinación del caudal y patrón de aspersión de diferentes tipos de boquillas. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba.
- Holloway, P.J. 1970. Surface factors affecting the wetting of leaves. *Pesticide Science*, 1; 156-163.
- Martínez M.A. (2001). Saponinas esteroides. *Rev. Universidad de Antioquia*, [online] Junio:2001. amart@muiscas.udea.edu.co
- Morales, G. M.G.. (2015). Extracción enzimática de limoneno en cáscara de limón. <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/205>
- Weiss-Angeli V, Bourgeois S, Pelletier J, StanisçuaskiGuterres S, Fessi H, Bolzinger M.A. Development of an original method to study drug release from polymeric nanocapsules in the skin. *J Pharm Pharmacol*. 2010; 62:35–45
- Kudrev, T. y L. Petrova. 1975. Influence of some PGR on water balance. *Fiziol. Rast. (Sofia)* 4, 71-75.
- MacKinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Biol. Chem.* 140(1), 315-322.
- Mackowiak, C., P. Grossl y B. Bugbee. 2001. Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. *Soil Science Society of America* 65(1),1744-1750. Doi: 10.2136/sssaj2001.1744
- Simonet, AM; Duran, AG; PAGSmirez, AJ; Maclas, FA Características en los espectros de RMN de las agliconas de *Agaves* spp. saponinas. Método HMBC para la identificación de agliconas (HMAI). *Fitoquímica. Anal.* 2021, 32, 38–61. [Referencia cruzada] [PubMed]

Tao, L.; Li, S. La toxicidad de la saponina como actor clave en la defensa de las plantas contra los patógenos. *Toxicón* 2021, 193, 21–27. [Referencia cruzada]

Ambreen, A.; Dastagir, G.; Bakht, J.; Adil, M. Actividades fitotóxicas, insecticidas y citotóxicas de *Ziziphus mauritiana* variedad Espontánea Edgew. y *Oenothera biennis* Pak. *J. Bot.* 2020, 52, 2191–2195.

Weiss-Angeli V, Bourgeois S, Pelletier J, Stanisçuaski Guterres S, Fessi H, Bolzinger M.A. Development of an original method to study drug release from polymeric nanocapsules in the skin. *J Pharm Pharmacol.* 2010; 62:35–45

Zaynab, M.; Fátima, M.; Abbas, S.; Sharif, Y.; Umair, M.; Zafar, M.H.; Bahadar, K. Papel de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas contra patógenos. *Microb. Patopatólogo.* **2018**, págs. 124, 198–202.

Zaynab, M.; Sharif, Y.; Abbas, S.; Afzal, MZ; Qasim, M.; Khalofah, A.; Ansari, MJ; Khan, KA;

Tao, L.; Li, S..2021. La toxicidad de la saponina como actor clave en la defensa de las plantas contra los patógenos. *Toxicón* 2021, 193, 21–27.