



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA Y AISLAMIENTO DE  
MICROORGANISMOS ENDÓFITOS DE *Agave americana*”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO DE  
BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**AUTORES:**

CERVANTES TENORIO DE REYNA, ROCÍO MIRIAM  
REYNA PIZÁN, TONY NARCISO

**ASESOR:**

Mg. HUALPA CUTIPA, EDWIN

**LIMA – PERÚ**

**2019**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**  
**INFORME DEL TRABAJO DE INVESTIGACION**

Yo, Mg. Edwin Hoalpa C. tipa, docente de la asignatura Seminario de Tesis II, de la Universidad María Auxiliadora; en mi condición de docente de investigación según el Artículo 10 de la **Resolución CU N°018-2019-UMA**, expreso mi conformidad con el trabajo de investigación presentado por los bachilleres:

N°	Bachiller	Trabajo de Investigación
1	Cervantes Tenorio Rocío Miriam Reyna Pizán Tony Narciso	“Identificación Fitoquímica y Aislamiento de Microorganismos Endófitos de <i>Agave americana</i> ”

Declaro que el trabajo de investigación se ha elaborado según lineamientos de la resolución **CU N°071-2019-UMA**.

Lima, <sup>28</sup> de noviembre de 2019

  
Mg. Edwin Hoalpa C. tipa

Docente Seminario de Tesis II

## **DEDICATORIA**

A Dios y nuestros hijos, Matias y Misael, por ser nuestra fortaleza gracias a su inmenso amor, paciencia y comprensión, por enseñarnos que en esta vida hay que luchar por nuestros sueños a pesar de las adversidades porque siempre habrá una luz de esperanza.

## **AGRADECIMIENTO**

Un agradecimiento especial al Mg. Edwin Hualpa Cutipa docente investigador, asesor de la presente tesis. Por su constante apoyo, orientación y consejo.

Mg. Daniel Ñañez del Pino, docente investigador, Químico Farmacéutico. Por su constante apoyo, orientación y consejo en el desarrollo de la tesis.

A Luis Escudero, tecnólogo de laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UMA, por su colaboración y paciencia durante la ejecución de la tesis.

## RESUMEN

El *Agave americana* es una planta superior que tiene muchas propiedades medicinales y está distribuida a nivel de todos los ecosistemas además se ha detectado que esta planta vive en constante interacción con diferentes microorganismos epifitos y endófitos.

El objetivo del presente trabajo fue determinar los componentes bioactivos y aislar microorganismos endófitos presentes en las hojas de *Agave americana*. Para ello se utilizaron diferentes metodologías como por ejemplo se recolecto una cierta cantidad de material vegetal del Centro de enseñanza perteneciente a la facultad de agronomía de la universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga del departamento de Ayacucho provincia de Huamanga. El cual fue procesado a través de maceración para así obtener finalmente el extracto seco. A partir de este extracto se realizó una marcha fitoquímica utilizando diversas pruebas de coloración y precipitación. Para el aislamiento de microorganismos endófitos se utilizaron hojas frescas de *Agave americana* y distintos medios de cultivo. Dentro de los resultados de este estudio se determinó los componentes bioactivos se encontró la presencia de metabolitos primarios y secundarios: Carbohidratos, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas y alcaloides. Con respecto al aislamiento de microorganismos endófitos se encontraron la presencia de 14 bacterias y 3 hongos perteneciente a los géneros *Colleotricum* y *Penicilliumsp.* Conclusiones: Se verificó cualitativamente la presencia de metabolitos primarios y secundarios además este estudio reporta por primera vez la presencia de microorganismos endófitos tanto bacterias como hongos.

## **ABSTRACT**

The American Agave is a top plant that has many medicinal properties and is distributed at the level of all ecosystems also has been detected that this plant lives in constant interaction with different epiphytic microorganisms and endophytes.

The objective of the present work was to determine the bioactive components and to isolate endophytic microorganisms present in the leaves of American Agave. For this purpose, different methodologies were used, such as collecting a certain amount of plant material from the teaching center belonging to the agronomy faculty of the National University of San Cristóbal de Huamanga in the department of Ayacucho, province of Huamanga. It was processed through maceration in order to obtain the dry extract. From this extract, a phytochemical march was carried out using various coloring and precipitation tests. For the isolation of endophytic microorganisms, fresh leaves of American Agave and different culture media were used. Within the results of this study the bioactive components were determined, the presence of primary and secondary metabolites was found: Carbohydrates, amino acids, phenolic compounds, flavonoids, sesquiterpenic lactones, saponins and alkaloids. With respect to the isolation of endophytic microorganisms the presence of 14 bacteria and 3 fungi belonging to the genera *Collecotricum* and *Penicillium* sp were found. Conclusions: The presence of primary and secondary metabolites was qualitatively verified. In addition, this study reports for the first time the presence of endophytic microorganisms, both bacteria and fungi.

# ÍNDICE

<b>PORTADA</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>ÍNDICE</b> .....	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Formulación del problema .....	3
1.2.1. Problema general .....	3
1.2.2. Problemas específicos .....	3
1.3. Objetivos .....	3
1.3.1. Objetivo general .....	3
1.3.2. Objetivos específicos .....	3
1.4. Justificación .....	3
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	5
2.1. Antecedentes .....	5
2.1.1. Antecedentes Nacionales .....	5
2.1.2. Antecedentes Internacionales .....	6
2.2. Base Teórica .....	7
2.2.1. El género <i>Agave</i> .....	7
2.2.2. Microorganismos endófitos.....	10
2.3. Definición de términos básicos.....	13
2.4. Hipótesis.....	14
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	15
3.1. Tipo de investigación.....	15
3.2. Nivel de investigación.....	15
3.3. Diseño de la investigación .....	15

3.4.	Área de estudio .....	15
3.5.	Población y muestra .....	15
3.6.	Variables y operacionalización de variables .....	16
3.7.	Procedimiento de recolección de datos .....	17
3.7.1.	Material vegetal: .....	17
3.7.2.	Descripción de la técnica .....	17
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>21</b>
4.1.	Identificación fitoquímica.....	21
4.2.	Aislamiento de microorganismos endófitos .....	23
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>30</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>31</b>
<b>7.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>32</b>
<b>8.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>33</b>
<b>9.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>36</b>
	Anexo 1. Matriz de consistencia.....	36
	Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica .....	37
	Anexo 3. Recolección del material vegetal.....	38
	Anexo 4. Preparación del extracto .....	39
	Anexo 5. Preparación de la alícuota.....	40
	Anexo 6. Siembra de microorganismos endófitos en los medios de cultivo .....	41

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Análisis fitoquímico de los metabolitos primarios y secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Agave americana</i> .....	22
<b>Figura 2</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	25
<b>Figura 3</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	25
<b>Figura 4</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	26
<b>Figura 5</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	26
<b>Figura 6</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	27
<b>Figura 7</b> Bacteria endófitas aisladas de hojas de <i>Agave americana</i> .....	27
<b>Figura 8</b> Hongo endofito aislado de hojas de <i>Agave americana</i> .....	28
<b>Figura 9</b> Hongo endofito aislado de hojas de <i>Agave americana</i> .....	28
<b>Figura 10</b> Hongo endofito aislado de hojas de <i>Agave americana</i> .....	29
<b>Figura 11</b> Recolección del material vegetal.....	38
<b>Figura 12</b> Preparación del extracto.....	39
<b>Figura 13</b> Preparación de la alícuota.....	40
<b>Figura 14</b> Siembra de microorganismos endofitos en los medios de cultivo.....	41

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de Agave Americana.....	21
<b>Tabla 2</b> Resultado de crecimiento de las siembras realizadas. ....	23
<b>Tabla 3</b> Bacterias y hongos observados macroscópicamente. ....	24

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, Se ha observado un elevado uso de plantas medicinales utilizadas en la medicina, la ciencia moderna, nos permite precisar, comparar y clasificar las propiedades medicinales que estas contienen basándose en evidencias científicas.

El Perú es un territorio con una multiplicidad de flora única en el mundo la misma que está representada por más de 25,000 plantas, de las cuales cerca de la mitad tienen propiedades curativas usadas desde tiempos muy remotos.

En el departamento de Ayacucho el *Agave americano* es una planta usada como antiinflamatorio, antibacteriano y anticancerígeno cabe resaltar que no se han realizado estudios científicos. Es de suma importancia no sólo rescatar ese saber popular, sino también validarlo científicamente. Por ello la importancia de conocer cuáles son los metabolitos secundarios que contiene esta planta es fundamental para conocer los posibles efectos farmacológicos que contenga. Asociada a las plantas se han reportado la aparición de microorganismos de diferentes especies, se ha percibido el papel fundamental de microorganismos endófitos para la nutrición y el desarrollo de plantas.

El desarrollo bio-económico de *Agave americana* en nuestro país es deficiente debido a que su cultivo no está muy difundido y son usados únicamente como cercos. Mediante nuestro trabajo se busca transformar el conocimiento en innovación, difundiendo el uso de esta planta para impulsar su producción y comercialización.

Por lo tanto, el presente proyecto de investigación busca realizar una identificación fitoquímica y aislar microorganismos endófitos de *Agave americano*.

# 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1. Planteamiento del problema

Desde tiempos remotos las plantas han sido usadas para tratar enfermedades puesto que contienen metabolitos secundarios. Del total de especies existentes usadas como plantas medicinales las dos terceras partes son silvestres. En el continente europeo solo el 10% de plantas medicinales comercializadas son cultivadas. Actualmente, hay un elevado índice de plantas utilizadas en la medicina, la ciencia moderna, nos permite precisar, comparar y clasificar las propiedades medicinales que estas contienen basándose en evidencias científicas. Agrupando a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, determinar sus estructuras químicas, proponiendo modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y comprobar su actividad farmacológica(15).

México es el país en el cual podemos encontrar el número más elevado de especies del género *Agave*. En 2006 la UNESCO reconoció como patrimonio de la humanidad a los paisajes de *Agave americana*. Los agaves fueron fundamentales en la alimentación y bebida de los antiguos mexicanos, además de proveerles fibras para todo tipo de uso y un sinnúmero de otras aplicaciones (18).

El Perú es un territorio con una multiplicidad de flora única en el mundo, alberga aproximadamente el 10% de todas las plantas existentes en el planeta, la misma que está representada por más de 25,000 plantas, de las cuales cerca de la mitad tienen propiedades curativas y algunas fueron usadas desde tiempos muy remotos. Debido a sus cualidades medicinales que presentan estas plantas se han convertido en el insumo esencial de la industria farmacéutica a nivel mundial (16).

Asociada a las plantas se han reportado la aparición de microorganismos de diferentes especies, se ha percibido el papel fundamental de microorganismos endófitos para la nutrición y el desarrollo de plantas. Hasta el momento no se han realizado estudios referentes a

microorganismos endófitos en *Agave americana*, por cual se propone aislar y caracterizar dichos microorganismos (17).

Por lo tanto, el presente proyecto de investigación buscará realizar una identificación fitoquímica y aislar microorganismos endófitos de *Agave americana*.

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema general

¿Cuáles son los componentes bioactivos y microorganismos endófitos presentes en las hojas de *Agave americana*?

### 1.2.2. Problemas específicos

¿Cuáles son los componentes bioactivos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Agave americana*?

¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en las hojas de *Agave americana*?

## 1.3. Objetivos

### 1.3.1. Objetivo general

Determinar los componentes bioactivos y aislar microorganismos endófitos presentes en las hojas de *Agave americana*

### 1.3.2. Objetivos específicos

Identificar los componentes bioactivos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Agave americana*.

Aislar microorganismos endófitos presentes en hojas de *Agave americana*.

## 1.4. Justificación

El *Agave americana* es una planta que se encuentra en el departamento de Ayacucho, utilizada como tratamiento empírico de gastritis, problemas inflamatorios, cicatrificaciones, como materia prima en la fabricación de sogas, miel, chancaca y como cercos naturales por su característica espinosa.

También cuenta con una justificación investigativa porque hasta el momento, no existen reportes sobre las saponinas presentes en las hojas de *Agave americana*.

La importancia de conocer cuáles son las saponinas que contiene esta planta es fundamental ya que estas presentan una actividad similar a las hormonas esteroideas del cuerpo humano, también presentan actividad anti-microbianas y propiedades anti-bacterianas.

De la misma forma se justifica al nivel teórico, debido a que generara el conocimiento necesario sobre las estructuras de saponinas presentes en el Agave, siendo beneficioso con resultados que beneficiarían a la industria farmacéutica, impulsando a realizar futuras investigaciones que nos permitan explotar los recursos naturales de nuestro país.

El desarrollo bio-económico de *Agave americana* en nuestro país es deficiente debido a que su cultivo no está muy difundido y son usados únicamente como cercos. Mediante nuestro trabajo se busca transformar el conocimiento en innovación. Difundiendo el uso de esta planta que impulsaría su producción y comercialización de este recurso natural.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Antecedentes Nacionales

Mayón(2), en su estudio analizó la actividad antioxidante del aguamiel de *Agave americana*. Determinó la actividad antioxidante, composición fisicoquímica, bio-componentes, grado de aceptabilidad, en distintos tiempos de pasteurización. Recomienda que, para el consumo del aguamiel de *Agave americana*, se debe tener en cuenta para conservar su actividad antioxidante y los biocomponentes, realizar la pasteurización en los parámetros óptimos de 80°C en 15 y 30 min.

Lujan *et al.* (3), determinaron la efectividad prebiótica de la penca de *Agave americana*, en el tratamiento en ratones con anemia inducida. Compararon los resultados obtenidos de ratones con anemia tratados con el extracto de penca cabuya y ratones con anemia sin tratamiento. Llegaron a la conclusión que el grupo de ratones tratados con el extracto mostraron elevada efectividad en el tratamiento.

Prado (4), en su estudio analizó el efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana*. Mediante un análisis cromatográfico y espectral determinaron la existencia de rutina y flavonoles. El efecto cicatrizante fue determinado mediante el método tensiométrico administrándose flavonoides aislados de las flores de *Agave americana* a concentraciones de 0,2; 0,5 y 1%, comparadas con el efecto de una crema cicatrizante. El autor concluyó que la concentración con el mayor porcentaje de efecto cicatrizante fue al 0,5%.

Pineda y Uribarri (5), en su estudio determinaron las propiedades químicas y creencias curativas populares del *Agave americana L.* Identificaron los componentes químicos del jugo, tomado del hoyo que queda al centro del racimo de las pencas al extraerse el tallo, teniendo como resultado: Proteínas 0.7%, Carbohidratos 9.7%, Energía total 41.6% y PH432%. Compararon estos resultados con un estudio realizado al jugo hervido de la planta en mención. Concluyeron que en el jugo sin hervir se encuentran presentes componentes químicos en mayor cantidad.

Soto *et al.* (14), realizaron análisis fisicoquímico del jugo de *Agave americana*. Las técnicas de análisis utilizadas para determinar las propiedades fisicoquímicas fueron: Refractómetro de longitud de onda, Picnómetro, Viscosímetro, Gravimetría. Obtuvieron como resultado presencia de inulina 33.9 %, componente prebiótico importante. Teniendo como resultado su transformación industrial, a favor de la población de las zonas rurales. Concluyeron que *Agave americana* tiene un alto contenido de inulina.

#### 2.1.2. Antecedentes Internacionales

López (7), realizó el control de calidad y evaluó la actividad antidiabética de la miel *Agave americana*, comprobando la actividad antidiabética in vivo en 12 ratones previa inducción de hiperglucemia, el tratamiento consistió en administrar metformina al control positivo y la miel de agave a los tratamientos (50° C, 70° C, 90° C), realizó el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico. Finalmente determino la vida útil en condiciones aceleradas distintas, al ambiente y en refrigeración. Concluyo que hubo presencia de actividad antidiabética en la miel de *Agave americana* que fue obtenida a 70° C comparable a la del control positivo con la metformina.

Gonzales (1) analizó la actividad antibacteriana de 3 especies de la familia Agavácea, uso el método de extracción metanólico con la que detectó la presencia de: Alquenos y compuestos cíclicos. Obteniendo como resultado la actividad antibacteriana de las saponinas mediante métodos espectroscópicos de IR y de masas. De las 3 especies analizadas el compuesto aislado de *A. Lechuguilla* contiene saponinas esteroidales, conformadas por un aglicón que está unido a un monosacáridos a través de un enlace glicosídico a la cual se le atribuye la actividad antibacteriana.

Kumar *et al.* (13) evaluaron el efecto antiinflamatorio del extracto de *A. americana*. La planta contiene flavonoides y geninas que han demostrado tener efectos anti edematosos en la fase aguda de la inflamación. El porcentaje de inhibición de 400 mg / kg de extracto

hidroalcolico de *Agave americana* a la tercera hora es casi comparable con el estándar. Las dosis graduadas (200 y 400 mg / kg) mostraron una reducción altamente significativa. Los autores sugirieron utilizar dosis más altas de hojas de *Agave americana* para comprender mejor el mecanismo de anti inflamación.

Torres y Quintana (8), realizaron una comparación descriptiva entre las plantas utilizadas en la medicina tradicional de Cuba y Canarias. Obtuvieron como resultado que el *Agave americana* tiene propiedades anti-inflamatorias, antibacteriana y laxantes. Enfatizaron que se debería aprovechar esta información para la realización de tamizaje fitoquímicos y farmacológicos las distintas especies.

Martín (9) en su estudio investigó los metabolitos fito-químicos y los efectos farmacológicos de los extractos hidroalcohólico y butanólico de *Agave brittoniana*. Caracterizó físico-químicamente la droga seca y del extracto hidroalcohólico, comprobando la presencia de saponinas y azúcares reductores. También estudió la actividad antiinflamatoria del extracto butanólico. Estableció un modelo crónico de granuloma inducido por discos de algodón. Los extractos obtenidos a partir del *Agave brittoniana*, obtuvo como resultado presencia de actividad antiinflamatoria en procesos crónicos.

## 2.2.Base Teórica

### 2.2.1. El género *Agave*.

El género *Agave*, cuyo significado es "noble" o "admirable" fue dado a conocer a la ciencia por Carlos Linneo en 1753. Las plantas del género *Agave* son originarias del continente americano, con la mayor agrupación de especies nativas en México, en el que se les conoce con los nombres comunes de "magueyes" o "mezcales"(6,10).

Son plantas perennes, rizomatosas, con raíces duras y fibrosas; además cuentan con un tallo grueso muy corto. Sus hojas son grandes, suculentas que terminan en una espina y que están dispuestas en roseta, los filos de las hojas presentan pequeñas espinas rectas. Las

inflorescencias son un racimo ramificado de flores, las semillas son planas y negras. Los agaves son semélparos, solo florecen una vez durante su periodo de vida(1,6)

#### 2.2.1.1.Taxonomía del *Agave americana*.

*Agave americana* pertenece a la familia de las agaváceas, procedente del continente americano , fue publicado por Species Plantarum en 1753 por el naturalista sueco Carlos Linneo, proviene del griego *Agavos*. La palabra *Agave* significa admirable o noble. El *Agave americana* se caracteriza principalmente por sus hojas verde-grises, espinosas. Es una planta que crece rápidamente, alcanzando la madurez en pocos años. (6,11)

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Liliopsida
- ✓ Subclase: Liliidae
- ✓ Orden: Asparagales
- ✓ Familia: Agavacea
- ✓ Género: *Agave*
- ✓ Especie: *A. americana*
- ✓ Hábitat: Continente americano

#### 2.2.1.2.Composición química del Agave.

Los Agaves presenta, sólidos en un 33%, de células un 36.20 %, 6975 de fructanos y de lignina un 17.02 %. Su contenido de humedad es de 67%(12).

Contiene abundantes saponinas, 26 en total. Las que más resaltan son la hecogenina, la 9-11- dihidro-hecogenina y la 9-hidrohecogenina, también contiene compuestos químicos como la Ticogenina, la Clorogenina, la Neoticogenina y la Kamogenina. Las hecogeninasson usadas en la industria farmacéutica como materia prima para producir corticosteroides (cortisona, etc.) y otras hormonas relacionadas con fármacos anticonceptivos. La

producción de hecogenina se da mediante un proceso de fermentación(6).

También contiene una excelente enzima digestiva proteolítica aminopeptidasa, usada como ablandador de carne ,tratamiento de heridas necróticas infectadas(6).

#### 2.2.1.3.Propiedades del Agave.

A través de la historia se han descrito diversas propiedades para esta planta (4,12).

Las principales características descritas son:

- Gastritis y úlceras: La savia del Agave tiene propiedades antisépticas externas e internas, por lo tanto, lo usan en el tratamiento de trastornos digestivos causados por el *Helicobacter pylori*.
- Prebiótico: Es estimulante del crecimiento de la flora intestinal.
- Disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos
- Recomendado para tratamiento de patologías hepáticas, respiratorias, desinfectante del cuero cabelludo y tónico en casos de alopecia.
- Las hojas secas en infusión son utilizadas para calmar los calambres, reumatismo, la irritación ocular, heridas e irritaciones de la piel para este último se usa el jugo fresco de las hojas.
- Diurético
- Antisifilítico
- Antiescorbútico
- Anti cancerígenos
- Antiinflamatorio
- Antimicrobiano
- Reducir osteoporosis
- Reduce el riesgo de cáncer de colon

#### 2.2.1.4. Usos del Agave

Se ha mostrado infinidad de usos desde tiempos muy remotos, lo utilizaban como alimento, para la obtención de fibras que usaban para la producción de vestimentas, en trabajos de construcción y también para uso doméstico (12).

- ✓ Alimenticios: Aguamiel, jarabe, miel, vinagre, aguardiente, azúcar, condimento.
- ✓ Tejidos y vestuarios: Hilos, cordeles y tejidos para costales, bolsas, ceñidores, mantas, telas, tapetes, morrales, sandalias, mecapales, naguas, huipiles, cinchos, hamacas, petates.
- ✓ Construcción: se usa para delimitar terrenos.
- ✓ Doméstico: Jabón para ropa, cepillo, escobas, canastas.

#### 2.2.1.5. Características del crecimiento de Agave

La planta crece a una temperatura óptima de 18 a 25°C, es resistente a las bajas temperaturas de las noches serranas, siempre que éstas se compensen con el calor del medio día. El clima más ideales un clima con 1200 a 1500 mm de lluvia al año, tolerando hasta a 300mm. Es una planta sumamente rústica, soporta variadas condiciones ecológicas, enraíza en distintos tipos de sustratos desde rocosas hasta arenosas, por lo tanto, es considerada una especie de suelos marginales y pobres. Sin embargo se ha preferido suelos arenosos o francos se ha evidenciado un mejor rendimiento(10).

#### 2.2.2. Microorganismos endófitos

Deriva del griego *endon*= dentro y *phyte* = planta De Barry utilizó el termino endófito en el año 1866, cuando se refirió a hongos viviendo dentro de los tejidos de una planta. Los microorganismos endófitos permiten colonizar tejidos internos de plantas sin producir signos visibles de enfermedad, sin embargo, algunas veces pueden mostrar un grado de patogenicidad ligero. El término endófito se refiere a los hongos y

bacterias que durante todo o parte de su ciclo de vida viven sin producir daño en la parte interna de las células o tejidos de plantas superiores. Viven en los espacios intercelulares e intracelularmente, empleando los nutrientes que sintetiza la planta favoreciéndose de los metabolitos bioactivos que ellos producen, actividad que promete adelantos en el área biotecnológica y en sistemas agrícolas, por lo tanto, le brindan más beneficios a su hospedero en comparación con los rizosféricos (19,22).

#### 2.2.2.1. Actividad farmacológica

Existen metabolitos secundarios aún por descubrir los cuales podrían ser útiles para la humanidad. Como los alcaloides del ergotipo ergoclavina y ergopeptina establecen metabolitos secundarios activos, exclusivos de hongos endófitos Clavicipitáceos. Los metabolitos secundarios aislados incorporan una cifra elevada de agentes novedosos como, por ejemplo: antifúngicos, antibacterianos, citotóxicos, antivirales, nematocidas, anticancerígenos, insecticidas y fitotóxicos. La obtención de algunos metabolitos con características estructurales novedosas, que podrían influir en el descubrimiento de otros compuestos (20,22).

#### 2.2.2.2. Relación Simbióticas de Planta- Hongos

Los hongos endófitos forman con sus hospederos relaciones simbióticas complejas resultando desconocido el beneficio que recibe cada uno de los participantes por estar involucrado en esta relación simbiótica. Se han descrito un grupo de hongos endófitos en pastos de las zonas templadas que les proveen protección contra herbívora y depredación de semillas mediante producción de toxinas. Obteniendo ellos alimento, un lugar donde vivir y dispersión a través de la semilla de su hospedero (19).

#### 2.2.2.3. Mecanismo De transmisión de Hongos Endófitos.

Existen tres mecanismos de transmisión de hongos endófitos al tejido vegetal: Llegada e incorporación de esporas aerotransportadas, transmisión por semillas y esporas inoculadas

por insectos directamente en las plantas. El primer mecanismo, también denominado transmisión horizontal, ocurre en la mayoría de los casos, mayormente en plantas leñosas donde el hongo usualmente se dispersa mediante esporas. La transmisión por semillas ha sido ampliamente estudiada en gramíneas, donde los hongos se transmiten entre generaciones por medio de las semillas de la planta hospedera(19).

#### 2.2.2.4. Identificación y aislamiento de endófitos

Una cantidad reducida de los microorganismos en la naturaleza es cultivable mediante el uso de métodos microbiológicos convencionales. A través del crecimiento en medios de cultivos se realizaba estudios de diversidad microbiana, que daban como resultado información sobre los grupos de microorganismos viables y cultivables dentro de la comunidad (21).

El medio de cultivo más utilizado para aislamiento de Hongos endófitos es el agar PDA. El medio de cultivo PDA enriquecido con ácido láctico tiene la infusión de papa como fuente de almidones, los cuales, en conjunto con la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras (25).

#### 2.2.2.5. Clasificación morfológica de los hongos endófitos

Los hongos endófitos son un grupo muy diverso y grupo taxonómico que tienen en común una característica que evolucionó separadamente en diferentes lugares del árbol filogénico, estos habitan en diversas partes de las plantas. Los hongos endófitos se han clasificado de acuerdo a su taxonomía en Clavicipitáceos y no Clavicipitáceos. Los grupos Clavicipitáceos se transmiten verticalmente, incluye especies simbiotes, relacionadas con hongos insectos junco y juncias, les confieren a sus hospederos resistencia a herbívoros y resistencia al estrés biótico y abiótico (22,24).

No Clavicipitáceos colonizan las plantas no vasculares, helechos, coníferas y angiospermas. Se divide en tres clases. La primera

clase conformado por el subreino Dikarya, con la capacidad de colonizarse por penetración hifal de los tejidos vegetales, transmisión horizontal es por medio de esporas y vertical vía tegumentos de semillas y/o rizoma. Dentro de sus principales características se encuentran colonización asintomática, rápida esporulación y envejecimiento rápido de la planta. La segunda clase pertenece principalmente al subreino Dikarya, comprende una amplia diversidad en tejidos aéreos, plantas y poblaciones de árboles tropicales, coníferos, angiospermos leñosos y herbáceos, no vasculares y vasculares sin semilla. Su transmisión es horizontal formando infecciones localizadas en tejidos vegetativos y reproductivos. En la tercera clase se encuentran principalmente hongos Ascomycetes conidiales o estériles los cuales forman estructuras melanizadas como hifas inter e intracelulares y microesclerocios en las raíces, colonizan específicamente las raíces a pesar de tener poca especificidad de huésped y hábitat; su transmisión es horizontal (22,24).

#### 2.2.2.6. Clasificación genética de los hongos endófitos

La clasificación genética de los endófitos aislados se da a través análisis de la similitud de las secuencias de la región ITS1-5.8S-ITS2 y del gen de  $\beta$ -tubulina con otras presentes en la base de datos Genbank. Se utiliza el programa BLAST® (Basic Local Alignment Search Tool, National Center for Biotechnology Information) para alinear la secuencia. La relación entre morfología y genética ha sido confirmada por estudios realizados. El árbol filogenético se construye a partir de la utilización de datos moleculares que pueden generar diferentes grupos filogenéticos (23).

### 2.3. Definición de términos básicos

- ✓ Antimicrobiano: Sustancias que tienen la capacidad de disminuir la presencia de microorganismos, como bacterias y hongos.

- ✓ Antibacteriana: Sustancias que tienen la propiedad de eliminar o inhibir agentes bacterianos.
- ✓ Aguamiel: Es la savia que se encuentra en el centro de la planta pertenecientes a la familia de los agaves.
- ✓ Bioactivos: Los compuestos que se encuentran en estudio para ser usados en la prevención del cáncer, las patologías del corazón y otras enfermedades.
- ✓ Bioeconomía: Es el conjunto de actividades económicas que utilizan recursos biológicos para generar un valor económico. Tiene como objetivo la producción y comercialización de productos forestales.
- ✓ Endófitos: Son organismos no patogénicos, los cuales durante algún momento de su ciclo de vida colonizan o no los tejidos internos de la planta sin causar ningún síntoma.
- ✓ Metabolitos secundario: Son compuestos orgánicos sintetizados por el organismo los cuales no tienen una función directa en el crecimiento o reproducción del mismo. La ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia.
- ✓ Microbiota vegetal: Agrupación de microorganismos que habitan en lugares permanentes y realizan funciones específicas asociados a tejidos sanos del cuerpo humano.
- ✓ Rizosféricos: Es una característica de la planta, el cual resiste al déficit de agua en zonas semiáridas mecanismos implicados.
- ✓ Semélparo: Organismo que se reproduce una sola vez a lo largo de su vida.

## 2.4.Hipótesis

### Implícita

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo de investigación

Básico

#### 3.2. Nivel de investigación

Exploratorio

#### 3.3. Diseño de la investigación

Descriptivo simple

#### 3.4. Área de estudio

Plantas provenientes del departamento de Ayacucho provincia de Huamanga. Se extrajo la muestra del Centro de enseñanza de la facultad de agronomía de la universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

#### 3.5. Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión

- Población: Plantas de *Agave americana* del departamento de Ayacucho de la provincia de Huamanga.
- Muestra: 5kg de hojas de *Agave americana* enteras y en buen estado.
- Criterios de inclusión:
  - ❖ Hojas en buen estado de conservación.
  - ❖ Hojas en estadio adulto.
  - ❖ Hojas geo- referenciadas.

La especie vegetal ha sido identificada en el herbario San Marcos, del museo de Historia Natural de la UNMSM, el cual otorgó una constancia de la planta de estudio (Anexo 02)

- Criterios de exclusión
  - ❖ Hojas en mal estado.
  - ❖ Hojas con microorganismos en estadios de crecimiento.
  - ❖ Hojas que no correspondan a la especie *Agave americana*

### 3.6. Variables y operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	INDICE
Metabolitos primarios y secundarios	Compuestos orgánicos biosintetizados por el organismo, que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo.	Componentes químicos identificados por diferentes reacciones químicas de coloración, precipitación u otras	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carbohidratos</li> <li>• Azúcares reductores</li> <li>• Aminoácidos</li> <li>• Compuestos fenólicos</li> <li>• Flavonoides</li> <li>• Taninos</li> <li>• Quinonas</li> <li>• Lactonas sesquiterpénicas</li> <li>• Saponinas</li> <li>• Alcaloides</li> </ul>	+ positivo - negativo
Microorganismos endófitos	microorganismos que pasan la mayor parte o todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de la planta hospedera, sin causar daño evidente	Aislamiento	Presencia de hongos y bacterias endófitas	Crecimiento de microorganismos en medios de cultivo

### 3.7. Procedimiento de recolección de datos

#### 3.7.1. Material vegetal:

Hojas de *Agave americana*

- Recolección:

Hojas frescas del *Agave americano* fueron recolectadas del Centro de enseñanza perteneciente a la facultad de agronomía de la universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga del departamento de Ayacucho provincia de Huamanga.

- Identificación taxonómica:

Una muestra significativa de la planta en estudio, fue identificada en el herbario San Marcos, del museo de Historia Natural de la UNMSM, para su identificación taxonómica.

- Tamizaje fito-químico:

Posteriormente a la extracción de los principios activos en el solvente, se dejó secar en bandejas con 200 ml c/u del macerado a temperatura de 40° C para la evaporación del solvente y realizar la recolección del producto resultante.

Para el reconocimiento de los metabolitos primarios y secundarios en hoja de *Agave americana*, se preparó un extracto de la muestra problema.

La cantidad que se utilizó de la muestra fue de la siguiente manera: se maceró por 7 a 15 días, 2 kg de la muestra con 3000 mL de etanol 70°, Posteriormente se filtró para los ensayos correspondientes.

#### 3.7.2. Descripción de la técnica

##### 3.7.2.1. Aislamiento de microorganismos endófitos modificado de Rojas M. et al (25).

- Se seleccionaron aleatoriamente hojas del *Agave americana*.

- Los tejidos vegetales fueron colocados en frascos de vidrios estériles en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora.
- Se realizó el proceso de esterilización de material vegetal (hojas) con una solución de etanol 70% por 3 min. Seguido de 3 enjuagues sucesivos con agua destilada. A continuación, la muestra fue encubada en hipoclorito de sodio al 3 % por un periodo de 6 min seguido de 6 enjuagues con agua destilada, con el fin de esterilizar la superficie y evitar el aislamiento de microorganismos epífitos, fito-patógenos y transitorios.
- Se utilizó una porción de 4x4 cm<sup>2</sup> del material vegetal, se trituró usando un mortero esterilizado añadiendo aliquotas de una solución isotónica (solución salina al 0.9%).
- Se tomó una alícuota 1 ml y se realizaron diluciones en 9 ml de una dilución isotónica (1/10).
- Se realizaron diluciones sucesivas hasta la 10<sup>-5</sup>.
- 500 µl de cultivo diluido, fueron agregados a las placas con medios de cultivo (Agar Dextrosa Papa, Agar Manitol, Agar Bacto Peptona, Agar LB, Agar Nutritivo, Agar Sabouraud). Se distribuyó utilizando el asadigralsky previamente esterilizado.
- Finalmente, las placas fueron encubadas a una temperatura 25 °C por 5 – 10 días.
- Para comprobar el crecimiento se realizaron observaciones diarias a los cultivos, para el posterior conteo de colonias.
- Aislamiento e identificación: Una vez visualizado el crecimiento se realizó una observación microscópica de las principales estructuras fúngicas y bacterianas. En estas últimas se realizó tinción gran.

#### 3.7.2.2. Identificación fito-química

- Se seleccionaron las hojas frescas, sanas y limpias del *Agave americana* luego fueron lavadas a chorro con agua destilada para eliminar partículas extrañas y desinfectadas con alcohol de 70°.

- La muestra fue secada en un recipiente limpio y desinfectado con alcohol de 70°.
- Se peso 2000 g de hojas frescas de *Agave americana* las cuales fueron cortadas y trituradas.
- Se vació en un frasco de color ámbar dondese le añadió 3000ml de etanol 70°, sobrepasando la muestra.
- La maceración se encubo durante 7-15 días a una temperatura ambiente con agitación periódica.
- Luego se filtró y fue encubado a 40 °C.
- Una vez obtenida el extracto seco se almaceno en un frasco de vidrio ámbar.

Fundamento: La extracción hidroalcohólica se basa en utilizar agua y etanol al 70% mediante el método por maceración, con el fin de extraer metabolitos polares y algunos apolares.

Tamizaje fito-químico se realizó en el Laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora, de acuerdo al método descrito por Lock O (26) debido a que ofrece mayor reproducibilidad y ser de fácil ejecución.

Para el análisis del perfil cualitativo fito-químico se realizaron pruebas de coloración y precipitación, se utilizó 3g de la muestra del extracto de las hojas *Agave americana* diluida en 100 mL de solvente acuoso (agua destilada). Se colocó 1 mL del extracto en cada tubo de ensayo y se agregó los reactivos respectivos, donde se identificó los metabolitos primarios y secundarios de esta especie.

Fundamento: El análisis del perfil cualitativo fito-químico se basa en la determinación cualitativa de los metabolitos primarios y secundarios mediante ensayos de coloración y precipitación, lo cual ayuda a su posterior aislamiento y caracterización. También, están basados en los modelos propuestos por Lock. O (26)

Según este método se realizó la marcha del extracto etanólico, utilizando los reactivos:

- Prueba de Molish: Carbohidratos
- Prueba de Fehling A y Fehling B: Azúcares reductores
- Prueba de Benedict: Azúcares reductores
- Prueba de Ninhidrina: Aminoácidos
- Prueba de Tricloruro férrico: Compuestos fenólicos
- Prueba de Shinoda: Flavonoides
- Prueba de Gelatina: Taninos
- Prueba de Borntrager: Quinonas
- Prueba de Baljet: Lactonas sesquiterpénicas
- Prueba con agua caliente: Saponinas
- Prueba de Dragendorff: Alcaloides
- Prueba de Mayer: Alcaloides

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Identificación fitoquímica

**Tabla 1** Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Agave Americana*.

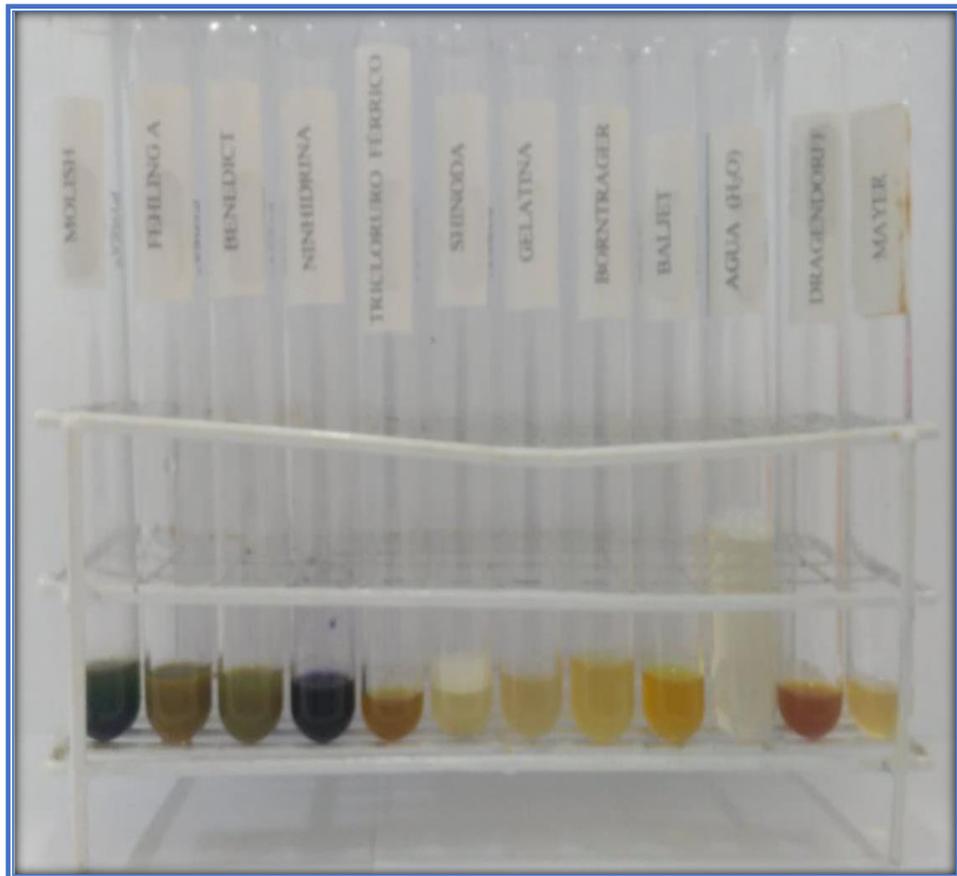
Reactivos	Metabolitos 1° y 2°	Resultados
Prueba de Molish	Carbohidratos	+
Prueba de Fehling a y b	Azucares reductores	+
Prueba de Benedict	azucares reductores	+
Prueba de Ninhidrina	aminoácidos	+
Prueba de tricloruro férrico	compuestos fenólicos	+
Prueba de Shinoda	flavonoides	+
Prueba de gelatina	taninos	-
Prueba de Borntrager	quinonas	+
Prueba de Baljet	lactonas sesquiterpénicas	+
Prueba con agua caliente	saponinas	+
Prueba de Mayer	alcaloides	+
Prueba de Dragendorff	alcaloides	-

Leyenda: Presencia (+)

Ausencia (-)

**Interpretación:**

Se realizaron las pruebas de coloración y precipitación, evidenciándose la presencia de metabolitos primarios y secundarios: Carbohidratos, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, lactonas sesquiterpénicas, saponinas y alcaloides; como se observa en la tabla 1 y figura 1.



**Figura 1** Análisis fitoquímico de los metabolitos primarios y secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Agave americana*

#### 4.2. Aislamiento de microorganismos endófitos

**Tabla 2** Resultado de crecimiento de las siembras realizadas.

<b>DILUCIONES</b>	<b>10<sup>0</sup></b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>10<sup>-5</sup></b>
<b>MEDIOS DE CULTIVO</b>						
AN	✓	✓		✓	✓	
AGAR SABOURAUD			✓			✓
AMS	✓		✓			
PDA			✓			
BPAAGAR BACTO PEPTONA	✓		✓	✓	✓	
LB		✓	✓	✓		✓

Leyenda:

✓ Crecimiento de microorganismos

Interpretación:

De las 36 siembras solo se pudo observar el crecimiento en 17 placas de agar. De las cuales se observó el crecimiento de microorganismos endófitos en mayor cantidad sobre agar nutritivo, Bacto Peptona y agar LB. La dilución que permitió el mayor crecimiento fue la dilución 10<sup>-2</sup>.

**Tabla 3** Bacterias y hongos observados macroscópicamente.

DILUCIONES MEDIOS DE CULTIVO	DILUCIONES					
	10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
AN	✓	✓		✓	✓	
AGAR SABOURAUD			✓			✓
AMS	✓		✓			
PDA			✓			
AGAR BACTO PEPTONA	✓		✓	✓	✓	
LB		✓	✓	✓		✓

Leyenda:



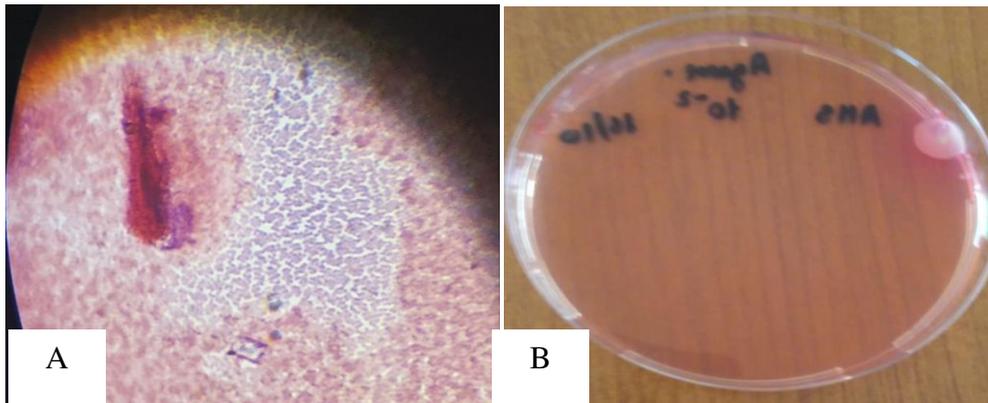
Bacterias



Hongos

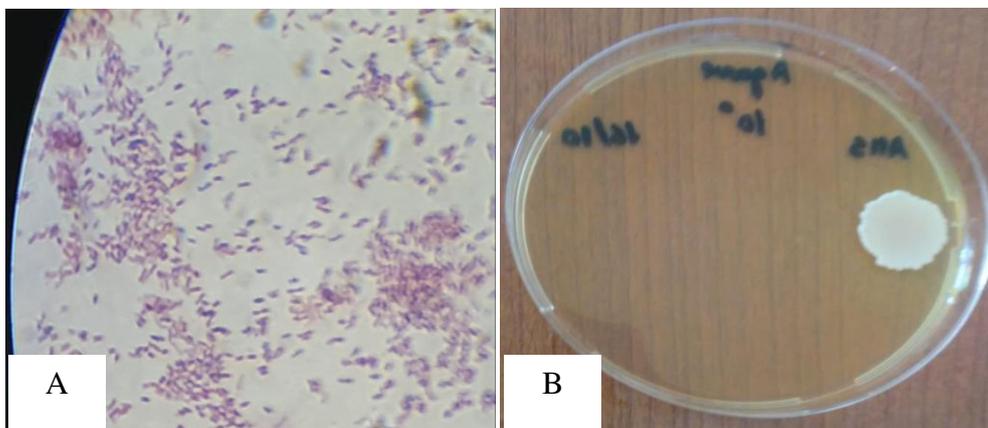
Interpretación:

Macroscópicamente se observó el crecimiento de hongos en 3 placas de agar (agar nutritivo, agar Sabouraud y agar papa dextrosa) y 14 placas con crecimiento bacteriano. Podemos resaltar que se obtuvo mayor crecimiento bacteriano en las placas con agar Bacto Peptona y agar LB.



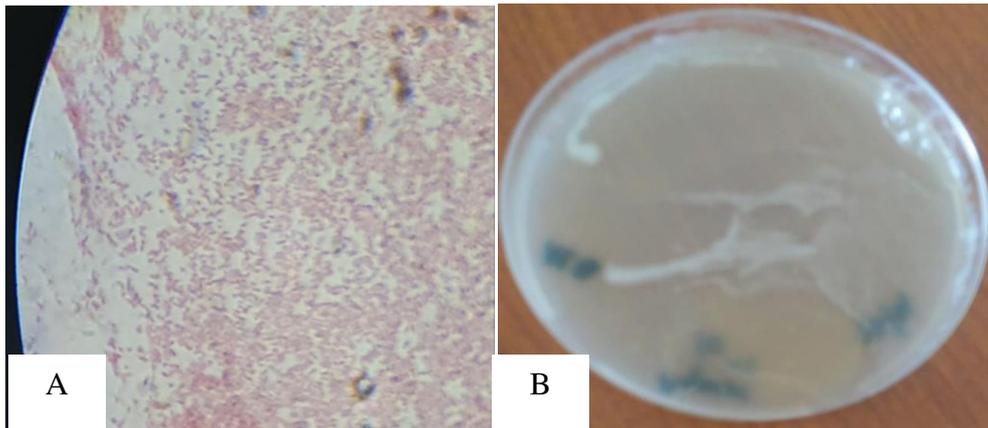
**Figura 2** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas vista a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AMS a una dilución  $10^{-2}$ .

En la **figura 2**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un Cocobacilo gran negativo.



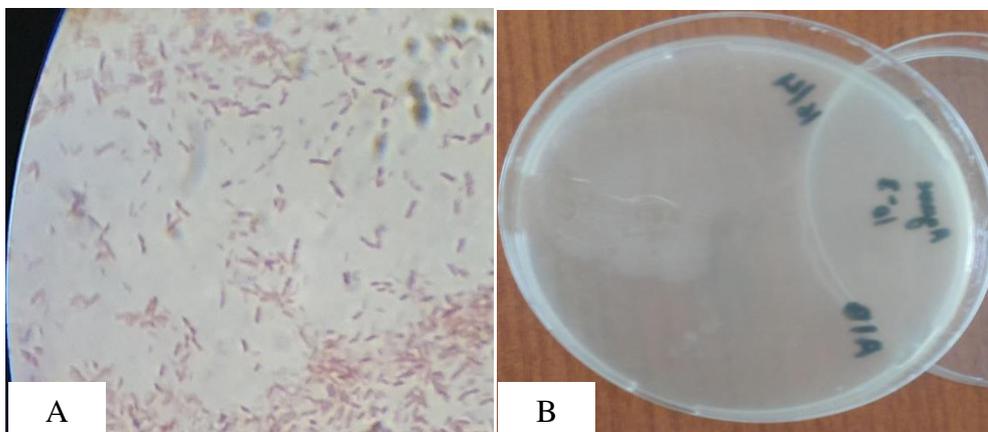
**Figura 3** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas vista a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AMS a una dilución  $10^{-0}$ .

En la **figura 3**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un Cocobacilo gran positivo.



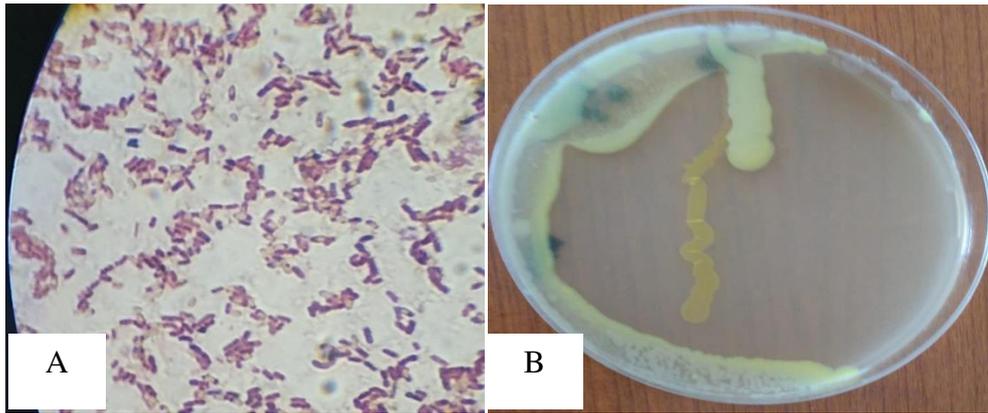
**Figura 4** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas vistas a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar LB una dilución  $10^{-1}$ .

En la **figura 4**, se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un *Cocobacilo* gram positivo.



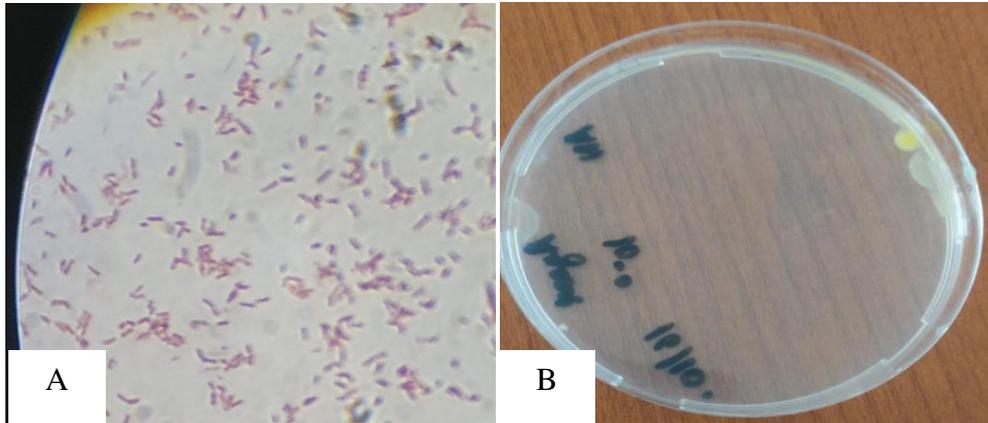
**Figura 5** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas vistas a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar LB una dilución  $10^{-3}$ .

En la **figura 5**, se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un *Cocobacilo* gram positivo.



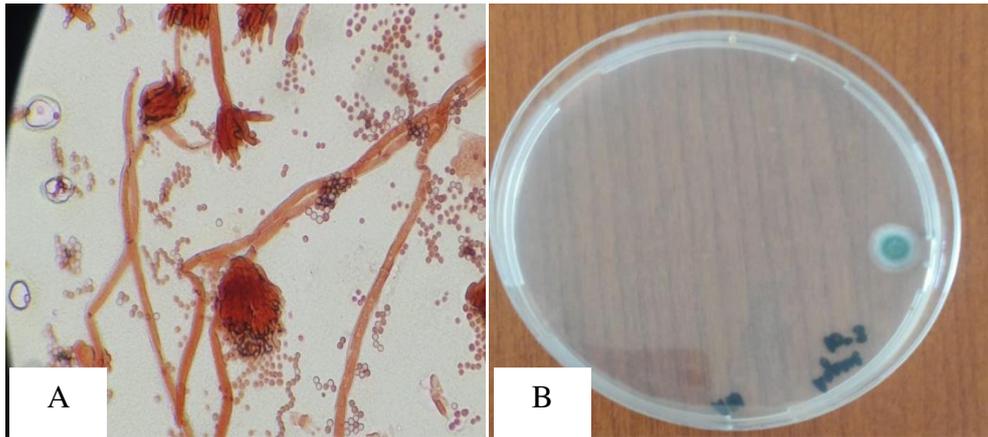
**Figura 6** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas visto a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar LB una dilución  $10^{-5}$ .

En la **figura 6**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un Cocobacilo gram positivo.



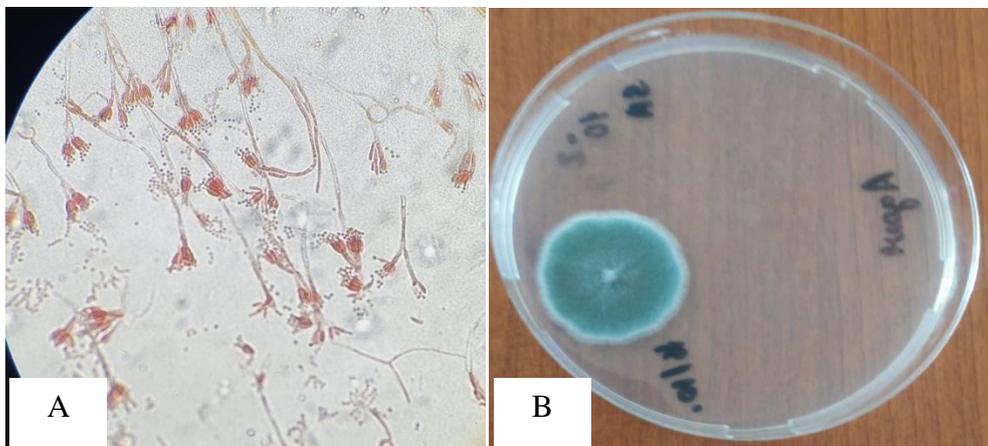
**Figura 7** Bacteria endófitas aisladas de hojas de *Agave americana*. **A.** bacteria endófitas visto a 40x. **B.** vista macroscópica de la bacteria crecida sobre agar AN una dilución  $10^0$ .

En la **figura 7**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de una bacteria endófitas que fue aislada de las hojas de *Agave americana* que por sus características morfológicas es un Cocobacilo gram positivo.



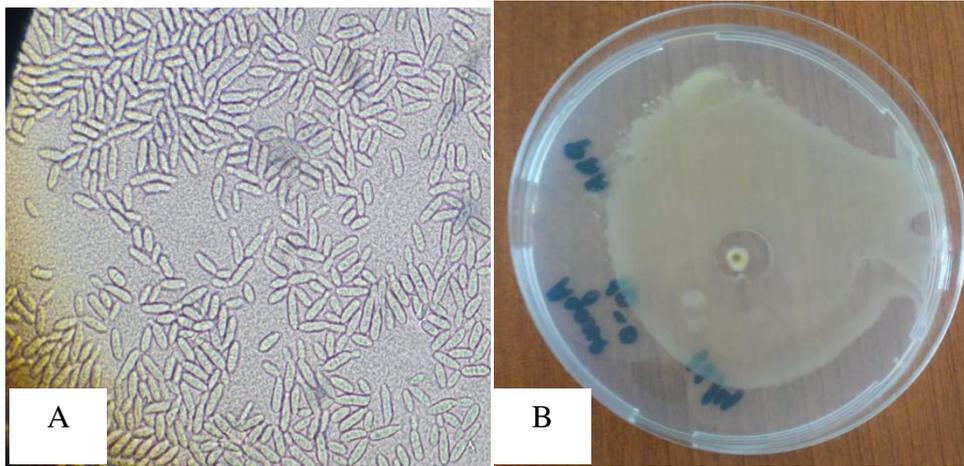
**Figura 8** Hongo endofito aislado de hojas de *Agave americana*. **A.** Hongo endofito visto a 40x. **B.** Vista macroscópica del hongo crecido sobre agar AN una dilución  $10^{-3}$ .

En la **figura 8**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de un hongo endofito que fue aislado de las hojas de *Agave americana* que por su morfología probablemente pertenece al género *Penicillium* sp.



**Figura 9** Hongo endofito aislado de hojas de *Agave americana*. **A.** Hongo endofito visto a 40x. **B.** Vista macroscópica del hongo crecida sobre agar Sabouraud una dilución  $10^{-2}$ .

En la **figura 9**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de un hongo endofito que fue aislado de las hojas de *Agave americana* que por su morfología probablemente pertenece al género *Penicillium* sp.



**Figura 10** Hongo endofito aislado de hojas de *Agave americana*. **A** Hongo endofito visto a 40x. **B** vista macroscópica del hongo crecida sobre agar PDA una dilución  $10^{-2}$ .

En la **figura10**. Se puede visualizar macroscópicamente y microscópicamente la forma de un hongo endofito que fue aislado de las hojas de *Agave americana* que por su morfología probablemente pertenece al género *Colleotricum*.

## 5. DISCUSIÓN

En el análisis del perfil cualitativo fitoquímico (tabla 1 y figura 1) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Agave americanase* evidenció la presencia de metabolitos primarios (carbohidratos, aminoácidos) y metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, lactonas sesquiterpénicas, saponinas y alcaloides) Loscuales fueron analizados mediante distintas pruebas de coloración y precipitación.

En comparación al trabajo realizado porGonzales (1) donde analizo tres tipos de *Agave* encontró la presencia de carbohidratos, saponinas y alcaloides sin embargo en nuestro trabajo el análisis fitoquímico dio como resultado la presencia además de los anteriormente mencionados compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas. Esta diferencia probablemente estérelacionada con el ámbito geográfico, el clima, el factorambiental ya que sus genotipos podrán ser iguales pero el factor ambiental diferente.

Con respecto al aislamiento de microorganismos endófitos se reporta por primera vez la presencia de hongos y bacterias endófitas que pueden tener una posible relación con la biología de la planta proporcionándole cierta resistencia a algunas plagasy mejorando la producción de las plantas. interacción simbiótica entre el microorganismo y la planta.

## **6. CONCLUSIONES**

- Se verificó la presencia de metabolitos primarios y secundarios como: Carbohidratos, azúcares reductores, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas y alcaloides.
- Se reporta por primera vez la presencia de microorganismos endófitos tanto bacterias como hongos.

## **7. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar estudios con los metabolitos presentes en la planta que tengan posible efecto antiinflamatorio, antibacteriano, anticancerígeno.
- Se recomienda realizar más estudios con respecto al uso de la planta a nivel tecnológico en nuestro país.
- Se recomienda realizar la caracterización molecular de los microorganismos aislados para identificar el género y la especie.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González Cantú G. Aislamiento y caracterización de compuestos derivados de plantas de la familia Agavaceae con efecto antimicrobiano sobre *Helicobacter pylori*. [Tesis Doctoral]Universidad Autónoma de nuevo León 2014.
2. Mayon huanachin M. Evaluación de la actividad antioxidante a diferentes tiempos de pasteurización del aguamiel de cabuya (*Agave americana* L.) en la provincia de Acobamba- Huancavelica [Tesis Doctoral]Universidad Nacional de Huancavelica. 2015.
3. Lujan Espinoza J, Reynaga Palomino Y, Santiago Saavedra L. Efectividad prebiótica de la penca de cabuya (*Agave americana*) en el tratamiento de ratones con anemia inducida. [Tesis Licenciado]Universidad Nacional Hermilio Valdizán. Huánuco-2018.
4. Prado I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* “cabuya”. Ayacucho 2013. [Internet]. 2015. Available from: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1156>
5. Pineda E, Uribarri D. Propiedades químicas y creencias curativas populares del Maguey o Cabuya. 2014;17(1):77–83. Available from: <https://docplayer.es/44884536-Propiedades-quimicas-y-creencias-curativas-populares-del-maguey-o-cabuya-agave-americana-l-caso-churcampa-huancavelica.html>
6. Cervantes Meneses Ig, Cuya Inga S. Elaboración de miel de cabuya y estudio de prefactibilidad de una planta en el distrito de Huanca Huanca, provincia de Angaraes, departamento de Huancavelica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
7. López Sánchez LG, Lucero O. Elaboración, control de calidad y evaluación de la actividad antidiabética de la miel de agave (*Agave americana* L.). Vol. Bachelor, Facultad de Ciencias. 2014.
8. Torres Jiménez I, Quintana Cárdenas I. Análisis comparativo sobre el empleo de plantas medicinales en la medicina tradicional de Cuba e Islas Canarias. [cited 2019 Apr 30]; Available from: [http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9\\_01\\_04/pla12104.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_01_04/pla12104.htm)

9. Martín Monteagudo D. Evaluación en modelos experimentales del efecto antiinflamatorio de extractos de *Agave brittoniana* Trel subespecie *Brachypus*. [Tesis Diplomado]Cuba .Universidad Central Marta Abreu de las Villas.2016
10. Sánchez Duque JC.Evaluación de tres métodos de reproducción del penco azul (*Agave americana*), en la parroquia Tocachi, cantón Pedro Moncayo provincia pichincha.Tesis de Grado.Universidad Politécnica Salesiana. 2013.
11. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Tropicos | Name - *Agave americana* L. [Internet]. [cited 2019 Apr 30]. Available from: <http://www.tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=1200371&langid=66>
12. Garcia Suarez D,Serrano H. El Agave como planta medicinal | No. 92 | 2014 | TecnoAgro [Internet]. 2014-05-09. [cited 2019 Apr 30]. Available from: <https://tecnoagro.com.mx/no.-92/el-agave-como-planta-medicinal>
13. Kumar M , Kumar V , y Ranjeet K .Efecto antiinflamatorio de un extracto de *Agave americana* en animales experimentales .Farmacognosia Res . 2018 enero-marzo; 10 (1): 104-108. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5855365/>
14. Lavado S, Robles C, Yenque D. Análisis isicoquímico de la cabuya azul. Rev. Industrial Data, vol. 18, núm. 1, 2015, pp. 98-100. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/816/81642256011.pdf>
15. Seminario P. Determinación de metabolitos secundarios en *Perezia pinnatifida* (*Bonpl.*) *Wedd* y su caracterización morfohistológica. [Tesis profesional]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos.2017.
16. Toledo N. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de "*triumfetta semitriloba*" jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago [Tesis profesional].Perú: Universidad Mayor de San Marcos. 2015.
17. Jiménez B y Vélez C. Estudio de microorganismos endófitos en plantas de *Rhizophora mangle* en dos ecosistemas de manglar del Caribe colombiano. [Tesis profesional].Colombia: Universidad libre de Colombia facultad de ciencias de la salud programa de microbiología barranquilla .2008.
18. Instituto de ecología UNAM. Los agaves y el campo mexicano. *Ikos* .2017; N°18:1-30. Disponible en:<http://web.ecologia.unam.mx/oikos3.0/images/Pdfs/2017-02.pdf>

19. González D. Aislamiento e identificación de hongos endófitos de la especie *piper aduncum* (piperaceae) y su actividad bactericida antagónica frente a distintas cepas microbianas. [Tesis Tecnólogo] Universidad tecnológica de Pereira. España. 2015.
20. Pérez, C, Rojas, S. Vale, M. Biología y perspectiva de microorganismos endófitos asociados a plantas. Rev. Colombiana cienc. anim. 1(2).2009 Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/46117056\\_biologia\\_y\\_perspectiva\\_de\\_microorganismos\\_endofitos\\_asociados\\_a\\_plantas](https://www.researchgate.net/publication/46117056_biologia_y_perspectiva_de_microorganismos_endofitos_asociados_a_plantas)
21. Sánchez F, Sánchez O, Sandoval E, Ulloa B, Armendáriz G, García M y Macías R. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 16(2):132-146, Mexico. 2013 Disponible en: [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405888X13720849](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405888X13720849)
22. Soto B. Vasquez de A, Zabalgogeoazcoa. Diversidad taxonómica de hongos endófitos. *Epichloe/Neotyphodium* en *lolium perenne* de distintos Hábitats. Instituto de recursos naturales y Agro biología de salamanca. España. 2014. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/98985/1/Diversidad%20taxon%C3%B3mica%20de%20hongos%20end%C3%B3fitos%20Epichloe%20Neotyphodium%20en%20Lolium%20perenne%20de%20distintos%20h%C3%A1bitats.pdf>
23. Trujillo M. Aislamiento de un hongo endófito de *piper crassinervium* (piperaceae) y su evaluación antibacteriana. [Tesis Tecnólogo]. Universidad tecnológica de Pereira facultad de tecnología escuela de tecnología química pereira, risaralda 2016.
24. Rodríguez M, Lora S. Micobiota endófito del género *Maxillaria* ruiz & pav. (orchidaceae) en dos reservas naturales del departamento del Quindío. Rev. Invest. Univ. Quindío (Col.), 28(1): 23-31; 2016. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/309105779>.
25. Rojas M. et al. Aislamiento de micromicetos endófitos en cladodios de *Opuntia* sp en el Morro de la Mancha. [Tesis Doctoral] UNAM. 2018
26. Lock O. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 3a ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.

## 9. ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia

TITULO DEL PROYECTO	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	METODOLOGIA
Identificación fitoquímica y aislamiento de microorganismos endófitos de <i>Agave americana</i>	<b>PROBLEMA GENERAL</b> ¿Cuáles son los componentes bioactivos y microorganismos endófitos presentes en las hojas de <i>Agave americana</i> ?	<b>OBJETIVO GENERAL</b> Determinar los componentes bioactivos y aislar microorganismos endófitos presentes en las hojas de <i>Agave americana</i>	Implícita	<b>TIPO DE INVESTIGACIÓN</b> Básico
	<b>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</b> ¿Cuáles son los componentes bioactivos presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Agave americana</i> ?	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> Identificar los componentes bioactivos presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Agave americana</i> .		<b>NIVEL DE INVESTIGACIÓN</b> Exploratorio
	¿Cuáles son los microorganismos endófitos presentes en las hojas de <i>Agave americana</i> ?	Aislar microorganismos endófitos presentes en hojas de <i>Agave americana</i> .		<b>DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b> Descriptivo simple
				<b>ÁREA DE ESTUDIO</b> Plantas provenientes del departamento de Ayacucho provincia de Huamanga. Se extrajo la muestra del Centro de enseñanza de la facultad de agronomía de la universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.
				<b>POBLACIÓN Y MUESTRA:</b> •Población: Plantas de <i>Agave americana</i> del departamento de Ayacucho de la provincia de Huamanga. •Muestra: 5kg de hojas de <i>Agave americana</i> enteras y en buen estado.

## Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



**"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"**

### CONSTANCIA 302-USM-2019

LA (e) JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hoja), recibida **de Rocío Miriam Cervantes Tenorio y Tony Narciso Reyna Pizán**; estudiantes de la Universidad María Auxiliadora; ha sido estudiada y clasificada como: ***Agave americana* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUB CLASE: LILIIDAE**

**ORDEN: LILIALES**

**FAMILIA: AGAVACEAE**

**GENERO: *Agave***

**ESPECIE: *Agave americana* L**

Nombre vulgar: "Cabuya"

Determinado por: Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

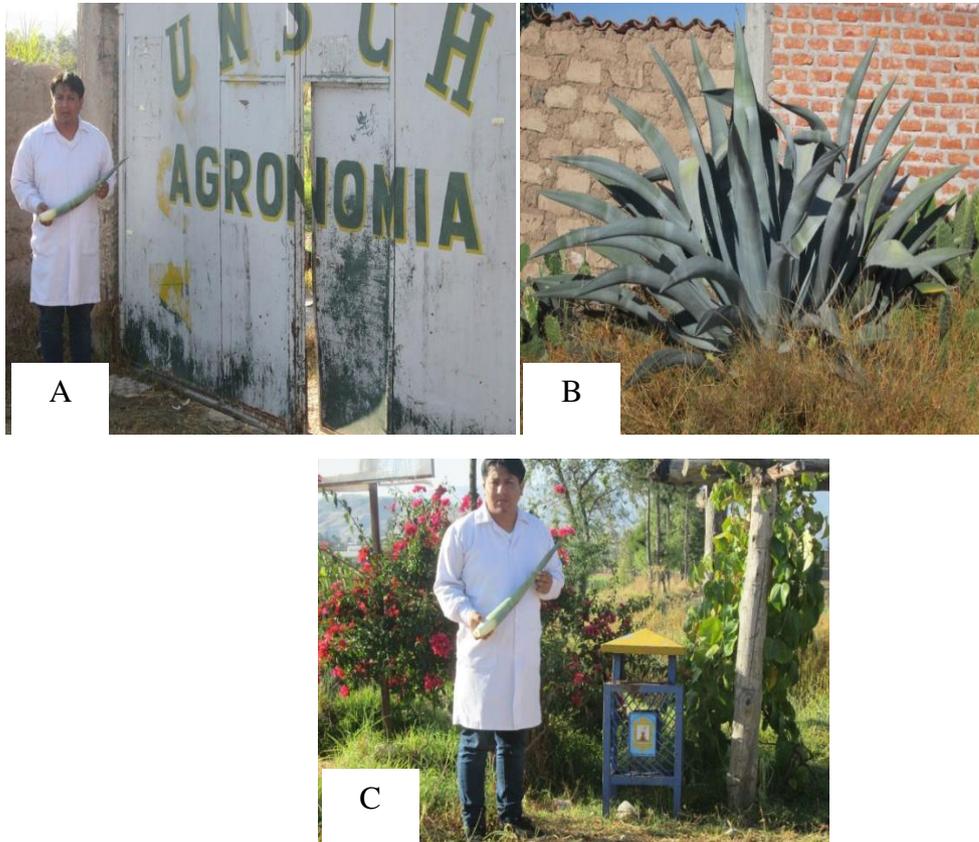
Lima, 17 setiembre de 2019

  
**Dra. Joaquina Albán Castillo**  
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



JAC/ddb

### Anexo 3.Recolección del material vegetal



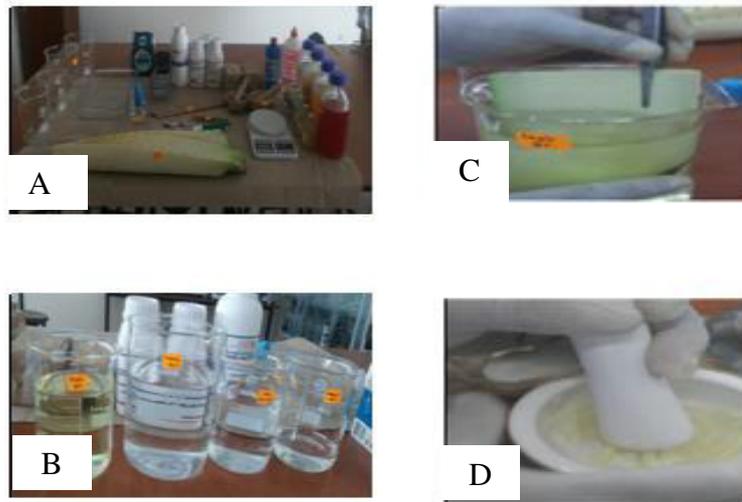
**Figura 11** Recolección del material vegetal. **A** Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. **B** Agave americana en su hábitat natural. **C** Recolección de la muestra.

#### Anexo 4. Preparación del extracto



**Figura 12** Preparación del extracto **A** Selección de la muestra vegetal. **B** limpieza de la muestra vegetal **C** filtración del macerado.

## Anexo 5. Preparación de la alícuota



**Figura 13** Preparación de la alícuota. **A** Material a usar. **B** Pomos de vidrio donde se realizaran los enjuagues respectivos. **C** Muestra vegetal en proceso de encubación en hipoclorito. **D** Material vegetal, se trituroó usando un mortero esterilizado añadiendo alícuotas de una solución isotónica.

Anexo 6.Siembra de microorganismos endofitos en los medios de cultivo



**Figura 14**Siembra de microorganismos endofitos en los medios de cultivo.