



Universidad del Mar

Campus Puerto Escondido

**“Evaluación de tres extractos acuosos de
Pithecellobium dulce (Roxb.) Benth sobre el
crecimiento de *Macrophomina phaseolina*,
Colletotrichum sp., *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

FRANCISCO JAVIER NARANJO LUNA

DIRECTOR:

DR. ARTURO REYES RAMÍREZ

PUERTO ESCONDIDO, OAXACA.

ENERO DEL 2012



UNIVERSIDAD DEL MAR

Puerto Escondido - Puerto Ángel - Huatulco

OAXACA

Puerto Escondido, Oaxaca, a 09 de junio del 2011

ASUNTO: Votos aprobatorios

Dr. José Luis Villarruel Ordaz
Jefe de la carrera de Biología
Universidad del Mar, campus Puerto Escondido



Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: **“Evaluación de tres extractos acuosos de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth sobre el crecimiento de *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Alternaria sp.*”**, realizado por el pasante de Biología **Francisco Javier Naranjo Luna** con número de matrícula **05080023** quién cubrió los créditos de la carrera de Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio

Atentamente

Dr. Arturo Reyes Ramírez

M. en M. Mónica Marcela Galicia Jiménez

M. en C. Ana Claudia Sánchez Espinosa

M. en C. Mónica Alicia Calderón Oropeza

Dr. José Luis Villarruel Ordaz

c.c.p M. en C. Gerardo E. Leyte Morales. Vice-rector Académico, Universidad del Mar
c.c.p. Ing. Ruth Cruz Ríos. Jefa del Departamento de Servicios Escolares, Universidad del Mar

Ciudad Universitaria, Puerto Escondido, Oax.
01 (954) 58 83365

Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Oax.
01 (958) 58 43057 y Fax 01 (958) 58 43078

Ciudad Universitaria, Huatulco, Oax.
01 (958) 58 72559, 72560 y 72561

27 SET 2011

DEDICATORIA

A mis padres:

Ángela Luna Castillo
Francisco Naranjo Arias

A mis padres:

Cristina Santos García
José Luis Naranjo Arias

A mis hermanos

Mónica Naranjo Santos
José Alejandro Naranjo Santos
Addy Guzmán Chávez

Omar Yahir Naranjo Arias
Beatriz Naranjo Luna
Arturo Naranjo Luna

A mi director y mis sinodales

Dr. Arturo Reyes Ramírez

Dr. José Luis Villarruel Ordaz
MC. Mónica M. Galicia Jiménez

MC. Mónica A. Calderón Oropeza
MC. Ana Claudia Sánchez Espinoza

A mis compañeros y amigos

Addy , Dora, Valeria, Carlitos, Saira, Los Tugas, Natty, Juan y Yadira

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Por su apoyo incondicional en todos los momentos de esta larga pero satisfactoria tarea. Por darme afecto amoroso hasta en los momentos en los que no lo merecía. Por darle dirección a mi vida cuando esta tomaba otro rumbo. Por cuidarme, estimularme, limitarme, regañarme cuando era necesario. Pero principalmente gracias por permitirme volar con confianza, y ahora recuerdo cuando me decían que no tuviera miedo, y en verdad no tenía miedo, porque ustedes son mis alas.

A mis hermanos

Porque siempre he contado con ellos para todo, gracias a la confianza que siempre nos hemos tenido; por el apoyo y amistad, por soportar mis estados de ánimo cambiantes y que solo ustedes pudieron soportar.

A mis maestros

Gracias por su tiempo, por su apoyo, así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi tesis, en especial: al Dr. Arturo Reyes Ramírez por haber guiado y financiado el desarrollo de este trabajo y llegar a la culminación del mismo, por su paciencia y por tolerar mi impaciencia. A mis sinodales por tener el tiempo y la disponibilidad de leer, criticar y enriquecer detenidamente mi trabajo, infinitamente gracias.

A mis amigos

Recuerden por siempre quien es el Lion King del Clan... a rugir como solo nosotros sabemos hacerlo... gracias por todo su apoyo y por amenizar los momentos difíciles... LES QUIERO!!!

Al ITConkal

Por darme hospitalidad en sus instalaciones donde fue posible desarrollar la parte experimental de este trabajo de tesis, especialmente al Laboratorio de Fitopatología.

A mi “*alma máter*” la UMAR

Por abrirme las puertas hacia un mundo de conocimientos que guardo con recelo en mi mente. Por ser la institución que me educó y me formó intelectualmente, siendo en sus instalaciones los lugares donde muchas cosas aprendí, muchas gracias!

RESUMEN

Para realizar esta tesis se planteó el objetivo de determinar el efecto inhibitorio de tres extractos acuosos de hojas de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth sobre el crecimiento de *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp. y *Alternaria* sp., aislados de plantas de cultivos. Obteniendo como resultado la composición fitoquímica de los extractos, donde se encontraron saponinas en los tres extractos, antocianinas y terpenos en los extractos E₂ y E₃, terpenos y esteroides solo en el extracto E₂. Se determinó el efecto inhibitorio realizado por el método de difusión en agar, donde se encontró que los extractos E₂ y E₃ inhibieron a *M. phaseolina* en un 100 % mientras que los mismo extractos inhibieron en un 75.36 y 75.20 % respectivamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp. mientras que el E₁ solo inhibió un 11.71 %. Para el caso de *Alternaria* sp., la inhibición fue del 31.55 % para el E₁ y un 20.37 % para el E₃. En el tratamiento en el que se evaluó a *Fusarium* sp., se tuvo un efecto estimulante por parte de los tres extractos probados. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos con mayor actividad inhibitoria, encontrando que la mínima para el E₂ es de 1.0 mg/ml ante el crecimiento de *M. phaseolina* por difusión en agar y de 3.0 mg/ml para *Colletotrichum* sp. En la prueba realizada en líquido se determinó una concentración mínima de 0.3 mg/ml para inhibir el crecimiento de *M. phaseolina*.

Los resultados de esta tesis sugieren que el uso de extractos acuosos de hojas de *P. dulce* en hongos fitopatógenos representa una interesante alternativa fácil, eficiente, económica y con propiedades antifúngicas para el control de las enfermedades causadas por hongos en los cultivos tropicales.

Palabras clave:

Extractos acuosos, guamuchil, inhibición, análisis fitoquímico, hongos fitopatógenos.

ÍNDICE

	Páginas
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	iv
ABREVIATURAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Generalidades de los hongos fitopatógenos	2
2.1.1. Estructura general	2
2.1.2. Ciclo de vida	3
2.1.3. Reproducción asexual	4
2.1.4. Reproducción sexual	5
2.1.5. Ecología	7
2.1.6. Diseminación	8
2.1.7. Síntomas que producen los hongos en las plantas	8
2.1.8. Importancia de los hongos fitopatógenos	9
2.1.9. Hongos fitopatógenos en México	10
2.1.10. Control de hongos fitopatógenos	10
2.2. Generalidades de <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid	13
2.2.1. Clasificación científica	13
2.2.2. Descripción básica	13
2.2.3. Especificidad del hospedero	14
2.2.4. Enfermedad y síntomas	14
2.2.5. Ecología	16

2.2.6. Epidemiología	16
2.2.7. Control	17
2.3. Generalidades de <i>Fusarium</i>	17
2.3.1. Clasificación científica	17
2.3.2. Descripción básica	17
2.3.3. Especificidad del hospedero	19
2.3.4. Enfermedad y síntomas	19
2.3.5. Ecología	20
2.3.6. Epidemiología	20
2.3.7. Control	21
2.4. Generalidades de <i>Alternaria</i>	22
2.4.1. Clasificación científica	22
2.4.2. Descripción básica	22
2.4.3. Especificidad del hospedero	23
2.4.4. Enfermedad y síntomas	23
2.4.5. Ecología	23
2.4.6. Epidemiología	24
2.4.7. Control	25
2.5. Generalidades de <i>Colletotrichum</i>	25
2.5.1. Clasificación científica	25
2.5.2. Descripción básica	26
2.5.3. Especificidad del hospedero	26
2.5.4. Enfermedad y síntoma	26
2.5.5. Ecología	27
2.5.6. Epidemiología	28
2.5.7. Control	29
2.6. Potencial antifúngico de las plantas	30

2.7.	Generalidades de <i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth	31
2.7.1.	Clasificación científica	31
2.7.2.	Distribución	33
2.7.3.	Usos de <i>Pithecellobium dulce</i>	34
2.7.4.	Reportes de su uso como biocida	35
3.	JUSTIFICACIÓN	37
4.	HIPÓTESIS	38
5.	OBJETIVOS	38
5.1.	Objetivo general	38
5.2.	Objetivos específicos	38
6.	MATERIAL Y MÉTODOS	39
6.1.	Microorganismos fitopatógenos utilizados	39
6.2.	Colecta de hojas de <i>Pithecellobium dulce</i>	40
6.3.	Procesamiento de material vegetal para la elaboración de los extractos	40
6.4.	Obtención de los extractos acuosos	41
6.4.1.	Preparación del extracto E ₁	41
6.4.2.	Preparación del extracto E ₂	41
6.4.3.	Preparación del extracto E ₃	42
6.5.	Análisis fitoquímico	42
6.5.1.	Detección de saponinas	42
6.5.2.	Detección de antocianinas	43
6.5.3.	Detección de taninos	43
6.5.4.	Detección de terpenos y esteroides	43
6.5.5.	Detección de alcaloides	43
6.6.	Preparación del medio de cultivo para los tratamientos	44
6.7.	Preparación de los medios de cultivo para los bioensayos con los extractos	45

6.8.	Especificación de los inóculos	46
6.9.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en medio líquido	46
6.10.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por Método de difusión en agar	48
6.11.	Análisis estadístico de los resultados	48
7.	RESULTADOS	49
7.1.	Análisis fitoquímico	49
7.2.	Evaluación del efecto de los extractos en los fitopatógenos	50
7.3.	Determinación de la CMI por difusión en agar	58
7.4.	Determinación de la CMI por el método de diluciones en medio líquido	60
8.	DISCUSIÓN	61
8.1.	Análisis fitoquímico	61
8.2.	Evaluación del efecto de los extractos en los fitopatógenos	62
8.3.	Determinación de la CMI	65
9.	CONCLUSIONES	67
10.	LITERATURA CITADA	69

ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuaria.
sp.	Una especie (clasificación biológica)
spp.	Varias especies (clasificación biológica)
SNSP-O	Sistema Nacional Sistema Producto – Oleaginosas
DDT	Dicloro Difenil Tricloroetano
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
cm	Centímetros
mm	Milímetros
Roxb.	Se emplea para indicar a William Roxburgh como autoridad en la descripción y clasificación científica de algunas especies vegetales
Benth.	Se emplea para indicar a George Bentham como autoridad en la descripción y clasificación científica de algunas especies vegetales.
Penz.	Se emplea para indicar a Albert Julius Otto Penzig como autoridad en la descripción y clasificación científica de algunas especies vegetales.
Sacc.	Se emplea para indicar a Pier Andrea Saccardo como autoridad en la descripción y clasificación científica de algunas especies de hongos.
IBUNAM	Siglas de registro internacional del Instituto de biología de la UNAM
MEXU	Herbario Nacional de México
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
Duch.	Se emplea para indicar a Pierre Étienne Simon Duchartre como descriptor y clasificador científico de algunos vegetales.
OMS	Organización Mundial de la Salud

SECAB	Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello
PDA	Medio de cultivo: agar papa dextrosa
msnm	Metros sobre el nivel del mar
µm	Micrometros.
g	Gramos
No	Número
µL	Microlitros
mg	Miligramos
mL	Mililitros
lb	Libras
min	Minutos
g/L	Unidades: gramos por litro
2X	Concentración al doble en un volumen de uno
DCH	Diámetro de crecimiento del hongo
DCT	Diámetro de crecimiento del testigo
CMI	Concentración mínima inhibitoria
Vol	Volumen
CPD	Caldo papa dextrosa
[final]	Concentración final
W_s	Peso seco
W₁	Peso constante del papel filtro
W₂	Peso constante del papel filtro más inóculo
C_m	Crecimiento micelial
Arco Seno	Función trigonométrica: la función inversa del seno de un ángulo
E₁	Extracto 1
E₂	Extracto 2
E₃	Extracto 3
mg/ml	Unidades: miligramos por mililitros
µg/ml⁻¹	Unidades: microgramos por mililitros
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución por sus siglas en ingles.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. A. Estructuras microscópicas de un hongo septado indicando la reproducción asexual. B. Tipos de conidiomas. Fuente: Arauz-Cavallini, 1998; Carrillo, 2003.	5
Figura 2. Reproducción sexual de <i>Mycosphaerella musicola</i> , causante de la sigatoka en plátano. Fuente: Gonzáles, 1996.	6
Figura 3. Características morfológicas de un ejemplar de <i>Pithecellobium dulce</i> . A) un ejemplar adulto. B) hojas. C) frutos y D) semillas.	32
Figura 4. Mapa de distribución de <i>Pithecellobium dulce</i> en México. Fuente: Parrotta, 1991.	33
Figura 5. Efecto de los extractos sobre el <i>Macrophomina phaseolina</i> . Evaluación de los tres extractos sobre el crecimiento del hongo durante las primeras 72 horas de incubación. La Figura es una muestra de cinco repeticiones.	51
Figura 6. Efecto de los extractos sobre el <i>Colletotrichum</i> sp., en los primeros siete días de incubación. Después de los siete días había presencia de contaminación. La Figura es una muestra de cinco repeticiones.	52
Figura 7. Efecto de los extractos E ₁ y E ₃ sobre el crecimiento de <i>Fusarium</i> sp. La Figura es una muestra de cinco repeticiones.	54
Figura 8. Cambio de coloración del medio de cultivo por <i>Fusarium</i> sp. A. Testigo, B. Extracto E ₁ y C. Extracto E ₃ .	54

Figura 9. Efecto de los extractos E ₁ y E ₃ sobre el crecimiento de <i>Alternaria</i> sp. La Figura es una muestra de cinco repeticiones.	56
Figura 10. Porcentaje de inhibición de los extractos E ₁ y E ₃ en los cuatro hongos fitopatógenos probados.	57
Figura 11. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto acuoso macerado por calor (E ₂) de <i>Pithecellobium dulce</i> en <i>Colletotrichum</i> sp. (A), y <i>Macrophomina phaseolina</i> (B).	59
Figura 12. Determinación de la CMI del extracto E ₂ de <i>Pithecellobium dulce</i> sobre <i>M. phaseolina</i> en medio líquido.	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Principales cultivos de México y los hongos fitopatógenos que los parasitan.	12
Tabla 2. Metabolitos secundarios identificados en extractos de <i>Pithecellobium dulce</i> .	36
Tabla 3. Relación de proporciones de extracto y medio empleadas para la determinación de la CMI.	47
Tabla 4. Grupos fitoquímicos detectados en los extractos acuosos de <i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth.	49
Tabla 5. Crecimiento micelial de <i>Macrophomina phaseolina</i> a las 72 horas utilizando los extractos acuosos de <i>Pithecellobium dulce</i> .	50
Tabla 6. Crecimiento micelial de <i>Colletotrichum</i> sp., a los 12 días utilizando los extractos acuosos de <i>Pithecellobium dulce</i> .	52
Tabla 7. Crecimiento micelial de <i>Colletotrichum</i> sp., a los 12 días utilizando los extractos acuosos de <i>Pithecellobium dulce</i> .	53
Tabla 8. Crecimiento micelial de <i>Alternaria</i> sp. a los 12 días utilizando los extractos acuosos de <i>Pithecellobium dulce</i> .	55
Tabla 9. Concentración Mínima Inhibitoria por dilución en agar del extracto E ₂ ante <i>Macrophomina phaseolina</i> y <i>Colletotrichum</i> sp.	58