

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

**Efectos de *Agave americana* L.
sobre hongos fitopatógenos**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

DERGI ULISES MORALES VENTURA



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Enero 2022

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE
CHIAPAS**

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

**Efectos de *Agave americana* L. sobre
hongos fitopatógenos**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

DERGI ULISES MORALES VENTURA

IRECTORA

Dra. Carolina Orantes García

Banco de Germoplasma Vegetal

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH

CODIRECTOR

Dr. Eduardo Raymundo Garrido Ramírez

Instituto Nacional de Investigación Forestales

Agrícolas y Pecuaria (INIFAP)

ASESORA

Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Enero 2022



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
Fecha: 31 de enero de 2022

C. Dergi Ulises Morales Ventura

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

"Efectos de *Agave americana* L. sobre hongos fitopatógenos".

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dr. Eduardo Estanislao Espinoza Medinilla

Dr. José Antonio De Fuentes Vicente

Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez

Firmas:

[Firma]

[Firma]

[Firma]

Ccp. Expediente

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ciencias Biológicas por la formación recibida.

A la Doctora Carolina Orantes García, directora de esta tesis, gracias por aceptarme como su tesista, por la paciencia, los consejos y el tiempo que me ha dedicado.

Al Doctor Eduardo R. Garrido Ramírez por haber aceptado ser mi asesor de tesis y darme las facilidades para llevar a cabo este trabajo dentro de las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), por haber confiado en mí durante este proceso de mi formación, por su apreciable y constante ayuda para que esta investigación saliera adelante. Por ser una gran persona, un gran maestro, por el amor que demuestra tenerle ciencia, por la paciencia que tiene, en especial a mí, por enseñarme cada método y explicarme de una manera sencilla, por los consejos y todos los momentos vividos dentro de las instalaciones del INIFAP.

A la Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez por formar parte de esta investigación como asesora, por su apoyo y sus consejos en el proceso de realización y revisión de la misma.

Al Doctor Eduardo Estanislao Espinoza Medinilla por tomarse la molestia de ser uno de mis sinodales, así como también por las observaciones, comentarios y sugerencias para que esta tesis se realizara de la mejor manera.

Al Doctor José Antonio de Fuentes Vicente por tomarse la molestia de llevar a cabo la revisión de este trabajo, por los comentarios y sugerencias para su mejora.

DEDICATORIA

A **Dios** gracias por darme la vida, el entendimiento y por permitirme llegar hasta aquí y alcanzar un sueño y una meta más en mi vida.

A mis padres **Rosslain Morales Ramírez** y **Elvira Ventura Velázquez**, por confiar en mí, por su apoyo para poder alcanzar esta meta la cual no es solo mía, sino, también de ellos, por darme su amor en cada momento y nunca dejarme solo a pesar de las dificultades que se presentaran, gracias por estar siempre a mi lado, por luchar junto conmigo porque mis logros también son suyos.

A mi hermana **Karina Elide** por brindarme su cariño y su amor en cada momento, apoyarme y por nunca haberme dejado solo y hacer un poco más fácil mi estancia fuera de casa, por cada risa que me ha sacado.

A mi hermana **Gladis Janeth** por darme su cariño y su amor por aconsejarme y regañarme en los momentos que sentía que no podía más, por acompañarme hasta esta altura de mi vida.

A mi hermanito más pequeño y no menos importante **Andrik Rossel** por sacarme sonrisas en momentos ocupados o libres.

A mis Sobrinos **Hanna Jassive**, **David Emiliano**, **Eric Santiago** y **Axel Mateo**, por llegar a mi vida y llenarla de amor y felicidad, por regalarme momentos tan agradables a pesar de su corta edad, me han enseñados muchas cosas, como olvidar las veces cuando llegaba a casa después de mucho tiempo y escuchar que me habían extrañado. Los amo mucho.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Descripción de <i>Agave americana</i>	5
2.1.1. Usos.....	7
2.2. La fruticultura en México.....	8
2.2.1. Enfermedades en la fruticultura.....	8
2.2.3. Antracnosis.....	8
2.2.4. Antracnosis en mango.....	9
2.2.5. Antracnosis en papaya.....	9
2.2.6. Alternativas de control biológico en los cultivos.....	10
2.3. Extractos vegetales.....	10
2.3.1. Extracción.....	10
2.4. Plantas medicinales.....	11
2.5. Metabolitos secundarios.....	11
2.5.1. Clasificación de los metabolitos secundarios.....	12
2.5.2. Terpenos.....	12
2.5.2.1. Monoterpenos.....	14
2.5.2.2. Sesquiterpenos.....	15
2.5.2.3. Diterpenos.....	15
2.5.2.4. Triterpenos.....	16
2.5.2.5. Tetraterpenos.....	17
2.5.3. Compuestos fenólicos.....	17
2.5.3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	17
2.5.3.2. Lignanos y Lagninas.....	20
2.5.3.3. Flavononas y Flavanoles.....	20
2.5.2.5. Antocianinas.....	21
2.5.3.6. Taninos.....	22

2.5.3.7. Biosíntesis de compuestos fenólicos	23
2.5.4. Glucósidos	25
2.5.4.1. Saponinas	25
2.5.4.2. Glucósidos cardiacos.....	26
2.5.4.3. Glucósido cianogénicos.....	26
2.5.5. Alcaloides.....	27
2.6. Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos	28
III. ANTECEDENTES	29
IV. OBJETIVOS	34
4.1. General.....	34
4.2. Específicos	34
V. ZONA DE ESTUDIO.....	35
5.1. Zona de colecta	35
5.2. Clima	36
5.2.1. Hidrología.....	36
5.2.2. Vegetación	37
5.2.3. Fauna.....	37
VI. MÉTODO.....	38
6.1. Colecta del material vegetal.....	38
6.2. Preparación de extractos de <i>Agave americana</i> L.....	38
6.2.1. Extracto etanólico.....	38
6.2.2. Infusión	39
6.2.3. Extracción asistida en microonda con alcohol al 70% + agua (Hidroalcohólico)	39
6.2.4. Rendimiento de los extractos	39
6.3. Identificación de grupos de Metabolitos Secundarios	40
6.3.1. Alcaloides: Prueba con el reactivo de Dragendorff	40
6.3.2. Fenoles: Prueba de cloruro férrico	40
6.3.3. Flavonoides: Prueba de Shinoda	40
6.3.4. Glucósidos: Prueba de Molish.....	40
6.3.5. Saponinas: Prueba de espuma	41

6.3.6. Taninos: Prueba para taninos hidrolizables y condensados	41
6.3.7. Terpenos-esteroidales: Prueba de Liebermann-Buchard	41
6.3.8. Lactonas sesquiterpénicas o Sesquiterpenlactonas: Prueba de Baltej.....	41
6.4. Colecta del material biológico	43
6.5. Ensayo para determinar la actividad antifúngica.....	43
6.6. Cálculo de Porcentaje de Inhibición Relativa	44
6.7. Diseños estadísticos.....	44
6.7.1. Variables a evaluar	44
6.7.2. Análisis estadístico.....	44
VII. RESULTADOS	45
7.1. Aislamiento e identificación del fitopatógeno <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	45
7.2. Rendimiento de los extractos.....	46
7.3. Grupos de metabolitos secundarios.....	46
7.4. Efecto de los extractos de <i>Agave americana</i> L. sobre antracnosis de papaya	47
7.4.1. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya.....	49
7.5. Efecto de los extractos de <i>Agave americana</i> L. sobre antracnosis de mango.	50
7.5.1. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado del mango.	51
VIII. DISCUSIÓN.....	53
IX. CONCLUSIÓN.....	55
X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES	56
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	57
XII. ANEXOS.....	67
Anexo 1. Antracnosis causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en <i>Carica</i> <i>papaya</i> L. (papaya) y <i>Mangifera indica</i> L (mango).....	67
Anexo 2. Grupos de metabolitos secundarios presentes en extracto de <i>A.</i> <i>americana</i>	67
Anexo 3. Resultados de la prueba con el reactivo de Dragendorff para determinar alcaloides.	68
Anexo 4. Resultados de la prueba de cloruro férrico para determinar fenoles.	68
Anexo 5. Resultados de la prueba de Shinoda para identificar flavonoides.	68

Anexo 6. Resultados de la prueba con el reactivo de Molish para determinar glucósidos.	69
Anexo 7. Resultados de la prueba de espuma para identificar saponinas.	69
Anexo 8. Resultados de la prueba para taninos hidrolizables y condensados.	69
Anexo 9. Resultados de la prueba de Liebermann-Buchard para identificar terpenos-esteroides.	70
Anexo 10. Resultados de la prueba de Baljet para identificar Lactonas sesquiterpénicas.	70

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Usos de varias especies de Agave, productos y partes utilizadas	7
Cuadro 2. Los hidrocarburos principales de los terpenos.	13
Cuadro 3. Preparación de extractos de <i>A. americana</i> L sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya y mango.	44
Cuadro 4. Efecto in vitro de los extractos de <i>A. americana</i> L. sobre el hongo fitopatógeno <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya.	48
Cuadro 5. Efecto in vitro de los extractos de <i>A. americana</i> L. sobre el hongo fitopatógeno <i>C. gloeosporioides</i> aislado del mango.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la familia Asparagaceae	3
Figura 2. Distribución de género agave en México	4
Figura 3. Características morfológicas	6
Figura 4. Estructura del isopreno	13
Figura 5. Estructura química de diversos monoterpenos	14
Figura 6. Estructura de tres sesquiterpenos: Farnesol, Bisaboleno y Ionona.	15
Figura 7. Estructura química de la acotinina	16
Figura 8. Estructura química de la aziradactina	16
Figura 9. Estructura química del fenol	17
Figura 10. Estructuras químicas de fenoles	18
Figura 11. Estructuras químicas de algunos ácidos hidroxibenzóicos	18
Figura 12. Estructura química de algunos ácidos hidroxicinámicos	19
Figura 13. Estructura química de umbeliferona que pertenece al grupo de las cumarinas	19
Figura 14. Estructura química de lignanos	20
Figura 15. Estructura química de flavona naringina y flavanonoles taxifolina.	20
Figura 16. Estructura química de apigenin (flavonas) y quercetina (flavonoles).	21
Figura 17. Estructura química de Antocianina 3-glucosido	21

Figura 18. Estructura química de Procyanidina B2.....	22
Figura 19. Estructura química de Acutissimina.....	23
Figura 20. Biosíntesis de los policétidos.....	24
Figura 21. Ruta del ácido siquímico	24
Figura 22. Estructura química de saponina esteroideal.....	25
Figura 23. Estructura de la digitoxina de <i>Digitalis purpurea</i>	26
Figura 24. Estructura química de la Amigdalina	27
Figura 25. Ubicación del área geográfica del municipio de Comitán	35
Figura 26. Hongo fitopatógeno <i>C. gloeosporioides</i> aislado de los frutos.	45
Figura 27. Esporas aisladas de <i>C. gloeosporioides</i>	45
Figura 28. Micelio de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya.	45
Figura 29. Extractos hidroalcohólicos, acuoso y etanólico de <i>Agave americana</i> L. ...	46
Figura 30. Efectos de los extractos de <i>Agave americana</i> L., sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya.....	48
Figura 31 Actividad antifúngica de los extractos de <i>Agave americana</i> L. sobre <i>C.</i> <i>gloeosporioides</i> aislado de la papaya.....	49
Figura 32. Efecto de los extractos de <i>Agave americana</i> L. sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado del mango.	50
Figura 33. Actividad antifúngica de los extractos de <i>Agave americana</i> L. sobre el diámetro de la colonia <i>C. gloeosporioides</i>	51

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales de <i>A.</i> <i>americana</i> L.	47
Gráfica 2. Crecimiento del micelio de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de la papaya en los diferentes tratamientos.	49
Gráfica 3. Crecimiento del micelio de <i>C. gloeosporioides</i> aislado del mango sobre los diferentes tratamientos	52

RESUMEN

Las plagas y las enfermedades son unas de las principales limitantes de producción agrícola en México, a su vez la producción frutícola se ve seriamente afectada debido a problemas fitosanitarios, siendo responsable de la reducción del 10% al 80% a nivel comercial. El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* es uno de los principales patógenos que causa la antracnosis que afecta a este sector, debido a las escasas alternativas para el manejo y el control de esta enfermedad, así como la demanda de nuevos productos que sean limpios y libres de plaguicidas sintéticos, la siguiente investigación, tiene como objetivo determinar la actividad antifúngica del extracto de *Agave americana* L. sobre hongos fitopatógenos. Se recolectaron hojas de *A. americana* L. las cuales fueron utilizadas para la preparación de los extractos: etanólico, hidroalcohólico y acuoso, los solventes utilizados fueron etanol al 96%, alcohol al 70%+agua destilada estéril y agua destilada estéril respectivamente, las cuales se extrajeron de formas distintas, maceración, microonda e infusión. Se identificó los metabolitos secundarios mediante pruebas colorimétricas, en condiciones de laboratorio se aislaron los hongos patógenos y se cultivaron en medio de Papa-Dextrosa-Agar (PDA). Para determinar la efectividad de los extractos vegetales sobre el hongo se utilizó la técnica de medio envenado en PDA, la concentración empleada en el extracto etanólico fue del 30%, y el hidroalcohólico y acuoso al 40%, se tuvo un testigo absoluto (PDA) y un testigo químico (Manzate Mancozeb 200), se realizó un análisis de varianza y se aplicó la prueba de comparación de media de Tukey al 5% utilizando el programa IBM SPSS statistics 26. Los extractos de *A. americana* L. revelaron la presencia de grupos de metabolitos secundarios como: alcaloides, fenoles, glucósidos, saponinas, taninos, terpenos y lactonas sesquiterpénicas. Los resultados indican que los extractos etanólico y acuoso presentaron un porcentaje de inhibición de 100% sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya y del mango, mientras que el extracto hidroalcohólico presentó un efecto de inhibición del 52.68% sobre patógeno aislado de la papaya y 22.64% aislado del mango. De acuerdo con los resultados los extractos de etanólicos y acuoso puede ser una alternativa para el control de este patógeno.

Palabras claves: Extractos vegetales, patógeno, metabolitos secundarios.

I. INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son productos químicos muy empleados por el hombre principalmente en la agricultura y la horticultura, a causa de los beneficios que se le atribuyen (Karam *et al.*, 2004; Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) establece que plaguicida es la sustancia o mezclas de ellas, destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas (FAO, 1990).

Las plagas y las enfermedades constituyen el principal limitante de la producción agrícola en México (Ocaña, 2013), la fruticultura es una de las actividades con mayor potencial dada su amplia expansión en el mercado internacional e importancia en la dieta alimenticia (Reyes *et al.*, 2013), la producción frutícola se ve limitada debido a problemas fitosanitarios, siendo responsable de la reducción del 10% al 80% a nivel comercial, afectando el rendimiento y la producción de los cultivos (Intra *et al.*, 2011). Dentro de estas enfermedades se encuentra la antracnosis que es un problema fitosanitario causado por el fitopatógeno *Colletotrichum* spp., el cual afecta a especies de importancia económica como mango, papaya, cítricos, guanábana, aguacate, café y cultivos ornamentales entre otros (Silva *et al.*, 2006; Gañán *et al.*, 2015).

Para el control de la antracnosis se utilizan fungicidas en campo y en postcosecha, sin embargo, los resultados no han sido satisfactorios, la razón se le atribuye a que su utilización contribuye a la resistencia que el hongo ha desarrollado a los principales productos fungicidas (Saborío *et al.*, 2000). Además de esto el empleo inadecuado de fungicidas, produce compuestos que afectan y contaminan el suelo, agua y aire, por la acumulación de residuos potencialmente dañinos a la salud humana y animales (Rodríguez-Eugenio *et al.*, 2019). Lo anterior surge la necesidad de desarrollar estrategias que permitan enfrentar los escenarios presentados, tales como aceites esenciales y extractos de plantas para poder encontrar aquellos metabolitos secundarios con alto potencial antifúngico (Lam-Gutiérrez *et al.*, 2019; Villavicencio-Nieto *et al.*, 2010). En los últimos años se han realizado estudios de compuestos

aislados a partir de metabolitos secundarios de las plantas que han demostrado tener actividad antifúngica. *Agave americana* L. es una planta con una fuente de metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antifúngica (Davicino *et al.*, 2007). Lo que demuestra la posibilidad del uso de extracto de *A. americana* L. como una alternativa en la agricultura para combatir a los hongos fitopatógenos.

II. MARCO TEÓRICO

La especie *Agave americana* L. pertenece a la familia Asparagaceae, la cual es endémica de América y se distribuye desde los límites de Estados Unidos de América con Canadá hasta Bolivia y Paraguay. Incluye nueve géneros (*Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca*, *Manfreda*, *Polianthes*, *Prochnyanthes*, y *Yucca*) con 330 especies (García-Mendoza, 2002). El centro de mayor riqueza y diversidad de la familia se encuentra en México donde se distribuyen en 251 especies (76% del total), con 177 endémicas (70%) (García-Mendoza, 2002; García-Mendoza, 2007) (Figura 1).



Figura 1. Distribución de la familia Asparagaceae

El género se distribuye a lo largo del continente americano en las zonas que van de los 40° latitud norte hasta los 20° latitud sur. Se encuentra presente en zonas

áridas de Norteamérica y México, islas del caribe hasta Colombia y Venezuela (Húad-Marroquin *et al.*, 2010). En México están presentes 159 especies, con 119 de ellas endémicas (García-Mendoza, 2007). Se considera a la altiplanicie mexicana como su centro de distribución, reconociendo que las llanuras centrales y la subregión del sur (Puebla y Morelos) es donde se encuentra una mayor riqueza de especie, misma, que disminuye considerablemente al sur del Istmo de Tehuantepec, así como, hacia Sonora y Baja California (García-Mendoza, 2002) (Figura 2).



Figura 2. Distribución de género agave en México (CONABIO, 2005).

Son plantas perennes, con hojas dispuestas en espiral, arregladas en roseta en el ápice de un tallo, suculentas, fibrosas, con la base dilatada y carnosa. Respecto a los márgenes, exhiben una gran diversidad morfológica: los dientes córneos se originan sobre proyecciones de tejido azul conocidas como mamilas, o bien se ubican sobre una banda córnea continua, mientras que, en algunas pocas es filífero y se desprende en fibras, la hoja por lo general termina en una espina que puede medir algunos milímetros hasta varios metros. La inflorescencia es de apariencia espigada en el subgénero *Littaea* y racemosa o paniculada en el subgénero Agave. El pedúnculo

floral tiene brácteas que se reducen en tamaño desde la base hasta el ápice. Las flores son bisexuales, tubulares, con ovario ínfero, poseen seis tépalos de coloración verdosa-amarillento en muchas especies varían del blanquecino al rojo o al anaranjado. Los estambres son seis, sobrepasan a los tépalos y se insertan en diferentes longitudes del tubo. En la base del tubo se disponen tres nectarios que producen néctar, el principal atractivo para los polinizadores. El fruto es una cápsula seca, trilocular, con semillas dispuestas en dos hileras por lóculo, negras aplanadas y rodeadas por un ala corta en su parte distal. La reproducción es sexual o asexual mediante la generación de hijuelos estoloníferos en la base del tallo, intrafoliar o bien surgir en la inflorescencia; estos son los llamados bulbillos (García-Mendoza, 2007).

2.1. Descripción de *Agave americana*

Pertenece al grupo *Americanae* propuesto por Gentry (1992), se reconoce por la siguiente combinación de caracteres morfológicos. roseta hasta 2 m de alto, 2.5-3.0 m de diámetro. hojas de 1.5-2.0 m de largo, 15-25 cm de ancho, lanceoladas a algo espatuladas, erectas o algo recurvadas, acanaladas en el haz, glaucas, superficie ligeramente áspera, margen ondulado a crenado; dientes sobre mamilas, en la parte media de 0.5-1.0 cm de largo, 0.6-1.2 cm de ancho, rectos o recurvados; espina terminal 3.5-4.0 cm de largo, inflorescencia paniculada, laxa, 6-9 m de alto, contorno general ovalado, fértil desde la mitad o el tercio superior, ramas primarias 20-35, 1-1.2 m largo; pedúnculo verde-glaucos, brácteas del pedúnculo 30-60 cm largo, base hasta 10 cm de ancho, triangulares, cactáceas, margen entero, espina 1-1.5 largo. Flores 6-7.5 cm de largo, hipocrateriforme, verde-amarillentas; tépalos 2.5-3.5 cm largo, oblongos, gruesos, tubo del perigono 1-1.5 cm largo, ovario 2.5-3 largo, cuello 2-5 mm; estambres con filamentos 5.5-8.0 cm largo, insertos en la parte media del tubo. Cápsulas 4.0-5.5 cm largo, 2.0-2.5 cm ancho; semillas 9-10 mm de largo, 7-8 ancho, negras (Reynoso *et al.*, 2012). En la figura 3, se muestran algunas características morfológicas de *Agave americana*.

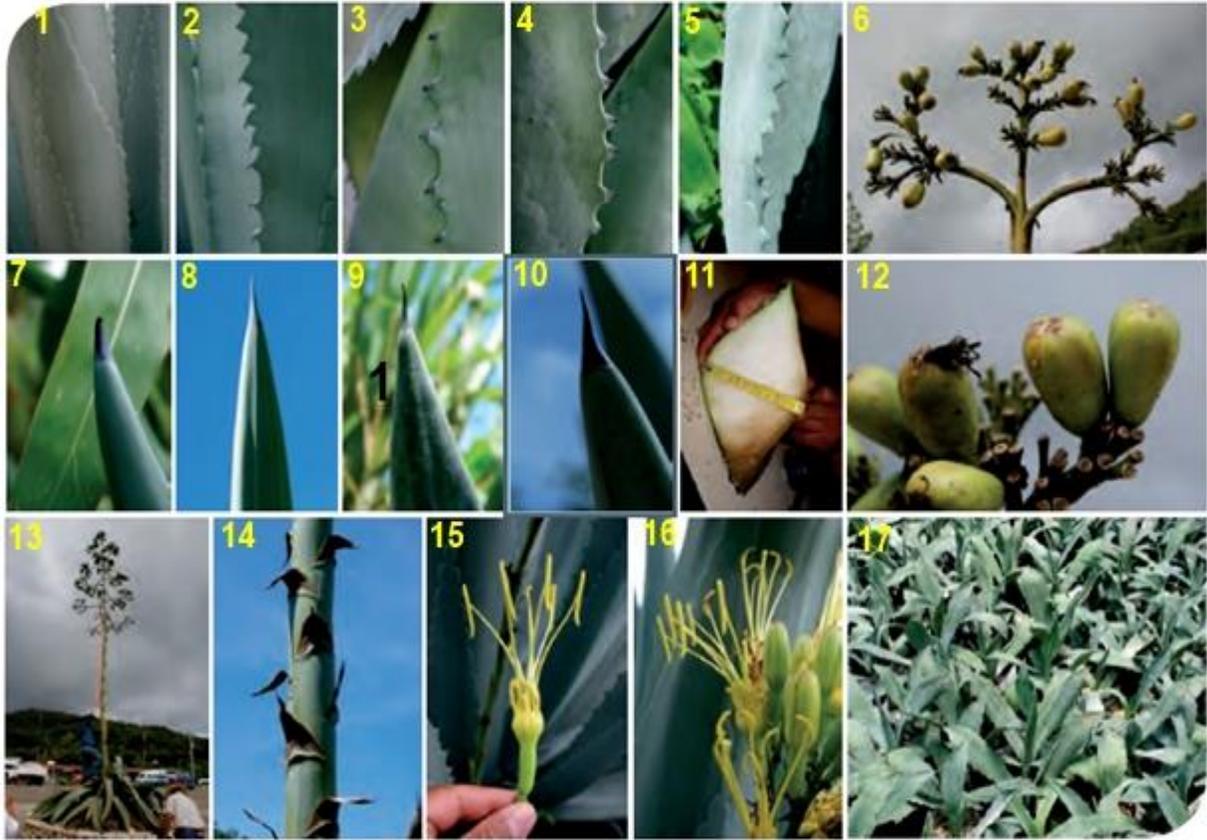


Figura 3. Características morfológicas: margen de hoja (del 1 al 5), ápice de hojas (del 7 al 10), fruto (6 y 12) y flor (15 y 16) de *A. americana* (Reynoso-Santos *et al.*, 2012).

Su distribución taxonómica de acuerdo con EcuRed es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta *Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal*

Clase: Liliopsida

Subclase: Liliidae

Orden: Asparagales Link

Familia: Agavaceae

Género: *Agave* L.

Especie: *Agave americana* L.

2.1.1. Usos

En México, el agave ha sido considerado como una planta con propiedades medicinales, sobre todo dentro de la medicina indígena. Algunas especies de agaves son utilizados para tratar procesos inflamatorios, artritis y fiebre. Las pencas machacadas y aplicadas en cataplasma provocan supuración; sirve también para desalojar los piojos de las bestias; la infusión de raíz es depurativa y mezclada con raíces de zarzaparrillas se dice que tiene un valor curativo (Escalona *et al.*, 2019).

La fibra es utilizada principalmente para la confección de sacos o costales para el empaquetamiento de granos como el café, también se utiliza para la elaboración de artículos como alpargatas, colchones, cordelería y tapetes. Las plantas jóvenes son utilizadas para preparar un curtido y el uso de las hojas es utilizado para el lavado de ropa delicada (García-Herrera *et al.*, 2010).

Uno de los usos más relevantes que se le da a un número importante de especies de agave, es su uso para la elaboración del mezcal. El maguey está disponible para su uso en la elaboración de mezcla cuando adquiere una edad entre los siete y los 12 años de edad, está en su punto de madurez fisiológica, lo cual depende de la especie y de las condiciones agroecológicas y ambientales a las que se hayan expuestos (Cuadro 1) (García-Herrera *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Usos de varias especies de Agave, productos y partes utilizadas (García-Herrera *et al.*, 2010).

USOS	PRODUCTO	PARTES UTILIZADAS
Construcción	Cercas, casas (jacales), corrales, tejas para cubrir techos de casas, canales para coleccionar agua de lluvia. Materiales compuestos: resinas termoplásticas o termófilas + fibras.	Escapo floral (quique) Hojas Hojas Residuos de fibra
Fibras	Cordelería, jarcería y cestería (lazos, ropa domestica) Escobetillas y cepillos para limpieza con jabón incluido, estropajos, tejidos y vestuario	Fibras de hojas Raíces, fibras de hojas Fibras de hojas
Medicinal	Cura golpes y lesiones internas, falta de movimiento en miembros, prevención de escorbuto, sanar heridas (antiinflamatorio) Cura anemia	Hojas Mieles y pulque
Ornamental	Adornos corporales (aretes, collares) Adornos de navidad Arco flores En jardines, calles, camellones	Semillas Plantas completas Fibras de hojas Planta completa
Domestico	Jabón o detergente para trastes y ropa, shampoo	Hojas, tallos y raíces

	Macetas de cazuelas, ollas o barriles Palillos para la extracción de gusano comestible Aguja incluyendo hilo para coser	Tallo (piña) Hojas y tallo (piña) Espinass terminales de hojas Espinass terminal más hebra de hoja
Otros usos	Industria química, farmacéutica, medicamentos y productos esteroides (saponinas) Productos de celulosa para papel Producción de etanol, celulosa y glucósidos	Hojas, raíces, tallo y semillas Hojas (pulpa y residuos de desfibramiento) Hojas (pulpa residuos del desfibramiento, bagazo, jugos)

2.2. La fruticultura en México

El territorio mexicano tiene una extensión territorial de 195.8 millones de hectáreas, de los cuales 24 millones (12%) se consideran para la agricultura, son 16 especies de frutas que se cultivan en mayor proporción y representa más del 95% de la superficie plantada con frutales en México las cuales sobresalen manzana, tuna, durazno, uva, ciruela, aguacate, banano, lima persa, limón mexicano, guayaba, mango, pomelo, piña, papaya, mandarina, naranja, considerando a México como el principal exportador de aguacate, mango, lima persa y papaya (Villegas y Mora, 2011).

2.2.1. Enfermedades en la fruticultura

Los frutos son susceptibles de ser atacados por patógenos saprófitos o parásitos, debido a su alto contenido en agua y nutrientes, los principales patógenos que afectan a este grupo de frutas son *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, *Fusarium proliferum* y *F. oxysporum*, *Alternaria* spp., *Athelia epiphylla* pers., *Cladosporium*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* Simmonds, *Botrytis cinérea* pers., *Venturia inaequalis* (Murray et al., 2019).

2.2.3. Antracnosis

Es causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. que en su forma sexual corresponde a *Glomerella cingulata* (Ston) Spauld & Scherenck. El hongo *C. gloeosporioides* pertenece a la superdivision Deuteromycota, Clase-forma Coelomycete, orden Melanconiales y familia Melanconiaceae. Se caracteriza porque presenta conidios hialinos, unicelulares, ovoides u oblongos, ubicados en una

estructura llamada acérvulo. Estos cuerpos son en forma de disco, cerosos, subepidermales y típicamente oscuros. Además de los conidióforos y conidios, presentan setas en el borde del acérvulo y entre los conidióforos.

Este patógeno afecta diversidad de especies frutícolas, entre ellas la papaya y el mango, considerados frutales de gran importancia socioeconómica. Las pérdidas se han cuantificado en 25 y 40 % para papaya y mango, respectivamente (Páez-Redondo, 2003). Para el manejo químico de la enfermedad se fundamenta en la aspersión de fungicidas como: oxiclورو de cobre, Captan, Benomyl, Orthocicle, Carbendazin, Mancozeb, Prochloraz y Clorotalonil. El caldo bordelés también se ha utilizado para el control de Antracnosis (Escalona *et al.* 2019).

2.2.4. Antracnosis en mango

La antracnosis es una de las enfermedades más importantes del mango (*Mangifera indica* L), debido a que ocasionan disminución de la producción, deterioro de la calidad del fruto y fuertes pérdidas postcosecha; principalmente en regiones con temperaturas y humedad relativamente elevadas (Gutiérrez-Alonso *et al.*, 2004). La enfermedad se manifiesta en formas severas en hojas tiernas de los árboles y puede destruir las flores y frutos tiernos durante el periodo de humedad.

La infección de frutos puede causar su caída prematura; sin embargo, las pérdidas importantes se presentan en la fase de maduración de los frutos, en los cuales se desarrollan lesiones irregulares de color café oscuro a negro, se pueden formar en cualquier parte del fruto; inicialmente son superficiales y solo penetran hasta la pulpa cuando se encuentran cubriendo gran parte de la superficie del fruto (Carrillo-Fasio *et al.*, 2005), los daños de antracnosis son más visibles cuando los frutos inician su madurez fisiológica, esta enfermedad afecta la calidad y reduce sus posibilidades de comercialización (Carrillo-Fasio *et al.*, 2005).

2.2.5. Antracnosis en papaya

En la papaya, el hongo afecta cualquier órgano de la planta; no obstante, el daño es mayor cuando infecta flores y frutos. En los frutos inmaduros generalmente el hongo

permanece latente, y solo cuando el fruto inicia o llega a la madurez de cosecha evidencia los síntomas de la enfermedad, produciendo manchas acuosas, hundidas y de color marrón oscuro en la superficie, afectando la calidad externa e interna del producto y con ellos su valor comercial (Páez-Redondo, 2003).

2.2.6. Alternativas de control biológico en los cultivos

La sociedad se ha vuelto más exigente y con mayor conciencia ecológica, cuestionan el uso de insumos químicos, por lo que se impulsa una tendencia mundial en la industria de insecticidas que buscan alternativas más sustentables (Pérez, 2018). Actualmente las alternativas de control varían debido a que los plaguicidas, han causado resistencia en los organismos patógenos, entre los métodos de control utilizados contra patógenos se encuentran el uso de aire caliente, tratamientos hidrotérmicos, atmósferas modificadas, extractos de plantas y microorganismos como agentes de control biológico (Carrillo-Fasio *et al.*, 2005).

2.3. Extractos vegetales

Los extractos son preparados concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivado generalmente de material vegetal desecado, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal (Carrión y García, 2010).

2.3.1. Extracción

La obtención por maceración consiste en mantener en contacto durante cierto tiempo a la muestra con el disolvente constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el disolvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la muestra, circulando a través en todas las direcciones y sentidos; y disolviendo así sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular (Carrión y García, 2010).

2.4. Plantas medicinales

México es uno de los países con mayor diversidad vegetal en el mundo, estimándose que tiene entre 23,000 y 30,000 especies de plantas (Toledo, 1994). A lo largo de la historia los humanos hemos empleado las plantas para alimentos y para tratar ciertas enfermedades, tanto en humanos como en las mismas plantas, debido a que estas producen más de 100,000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocidos como metabolitos secundarios (Domingo y López-Brea, 2003). Muchos de los cuales tienen propiedades biológicas, por lo que son una alternativa para buscar agentes terapéuticos.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los medicamentos herbarios contienen como principios activos partes de plantas u otros materiales vegetales, o combinaciones de estos elementos, y su uso está establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz. Aproximadamente 400 especies de plantas tiene propiedad antifúngica, y se estima que esta propiedad es una característica que se presenta debido a que posee metabolitos secundarios, mismos que les confiere esta característica (Vélez-Terranova, 2014).

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace miles de años, durante mucho tiempo los remedios naturales, sobre todo las plantas, fueron el principal e incluso el único recurso terapéutico disponible (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

2.5. Metabolitos secundarios

Las plantas además del metabolismo primario poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa, los que se denominan metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa (Cowan, 1999). El metabolismo secundario se define como la biosíntesis, la transformación y degradación de los compuestos endógenos mediante proteínas de especialización, las cuales se han formado como resultado de los procesos de diferenciación y se clasifican según su importancia biológica y función en la célula (García, 2004).

Estos presentan propiedades biológicas diversas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros, reciben también la denominación de productos naturales (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009), están involucrados en la protección de infección microorganismos, estos productos proporcionan barreras a la invasión micótica, donde inhiben la germinación de esporas o bien su aparición en forma unida dentro de la hoja y su liberación en estado libre durante el proceso de infección (Cowan, 1999).

Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de planta, a una familia, o incluso a algunas especies (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009), por lo que algunos de ellos se consideran marcadores taxonómicos de familias y géneros.

Debido a su estructura son químicamente reactivos; es decir, son aptos para ingresar en los sistemas vivos, interactuar y cambiar la estructura del receptor o blanco molecular, y penetrar las células donde pueden afectar varios procesos fisiológicos, de allí deriva su actividad biológica o farmacológica (Anaya Lang y Espinosa García, 2006).

2.5.1. Clasificación de los metabolitos secundarios

Se conocen más de 2,140, 000 metabolitos secundarios y se clasifican de acuerdo a su gran diversidad en estructura, función, y biosíntesis (Thirumurugan *et al.*, 2018). De acuerdo a Avalos-García y Pérez-Urria (2009) se agrupan en cuatro clases principales, terpenos (hormonas, pigmentos o aceites vegetales), compuestos fenólicos (cumarinas, flavonoides, lignina y taninos), glucósidos (saponinas, glucósidos cardiacos, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos) y alcaloides (alcaloides derivados de ornitina y lisina, alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina, alcaloides biosintetizados del triptófano).

2.5.2. Terpenos

Los terpenos o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). Las rutas biosintéticas de estos

compuestos dan lugar tanto a metabolitos primarios como a secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de la planta. Entre estos metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofila y plastoquininas, ubiquinonas y esteroides (Avalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Los terpenos derivan de la fusión de unidades de cinco carbonos llamada isopreno (C5) y un hidrocarburo, que se ilustra en la figura 4 y se clasifican de acuerdo con el número de carbonos presentes asociados al número de unidades de isopreno (Avalos-García y Pérez-Urria, 2009).

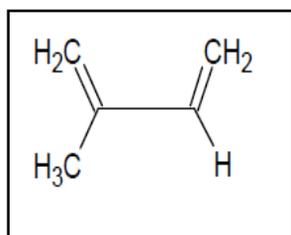
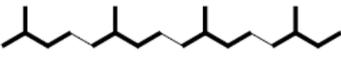
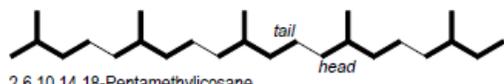
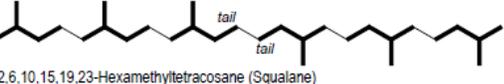
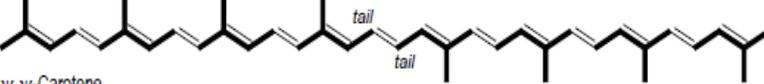
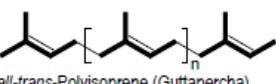


Figura 4. Estructura del isopreno (Ashutosh, 2007).

Se nombra a los terpenos de acuerdo con el número de carbonos presentes asociados al número de unidades de isopreno, que se repiten y se utilizan los siguientes prefijos: hemi (cinco carbonos “isopreno”), mono (10 carbonos), sesqui (15 carbonos), di (20 carbonos), tri (30 carbonos), tetra (40) y poli (cuando son más de cuarenta carbonos) (cuadro 2) (Pacheco, 2012)

Cuadro 2. Los hidrocarburos principales de los terpenos.

Número de Carbonos	Prefijo	Figura
C ₅	Hemi-	 - 2-Methylbutane
C ₁₀	Mono-	 2,6-Dimethyloctane
C ₁₅	Sesqui-	 2,6,10-Trimethyldodecane (Farnesane)

C_{20}	Di-	 2,6,10,14-Tetramethylhexadecane (Phytane)
C_{25}	Sester-	 2,6,10,14,18-Pentamethylsqualane
C_{30}	Tri-	 2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetracosane (Squalane)
C_{40}	Tetra-	 ψ, ψ -Carotene
$(C_5)_N$	Poly- terpenos	 <i>all-trans</i> -Polyisoprene (Guttapercha)

2.5.2.1. Monoterpenos

Son sustancias lipofílicas, volátiles, responsables del olor característico de muchas plantas. Se conocen más de 500 monoterpenos de origen vegetal, la gran mayoría son compuestos cíclicos. Son utilizados en la industria de los saborizantes y aromas, sus usos también comprenden las áreas farmacéuticas y agroquímicas (de Vivar, 2006) (Figura 5).

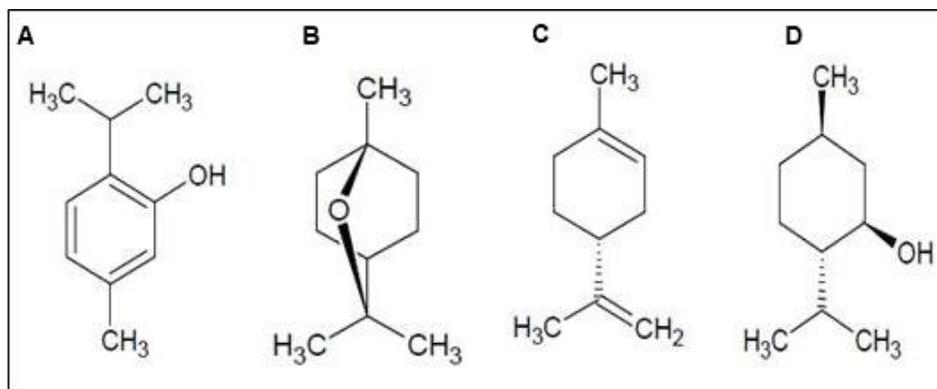


Figura 5. Estructura química de diversos monoterpenos A, timol; B, eucalipto; C, limoneno; D, mentol

También, las plantas producen mezclas de terpenoides con alcoholes, aldehídos y cetonas denominadas aceites esenciales, responsables de su olor y sabor característicos, de algunos de los cuales actúan como repelentes de insectos o insecticidas. Los que se encuentran en los aceites esenciales son generalmente monoterpenos como el limoneno y el mentol, principales constituyentes de los aceites de limón y menta, respectivamente (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009)

2.5.2.2. Sesquiterpenos

Son muy pocos utilizados en la industria farmacéutica, las mayores aplicaciones están orientadas por sus propiedades antiinflamatorias (Pacheco-Jiménez, 2012), en la siguiente figura se muestra las estructuras de tres sesquiterpenos (Figura 6).

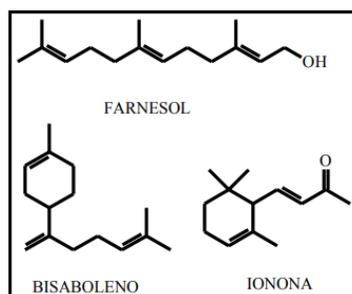


Figura 6. Estructura de tres sesquiterpenos: Farnesol, Bisaboleno y Ionona.

Muchos sesquiterpenos presentan actividades biológicas entre ellos se destacan las lactonas sesquiterpénicas, presente en el árnica y la valeriana (Kuklinski, 2003) que son conocidos por sus propiedades antimicrobiana, antitumoral, citotóxica y antifúngica (Enriz *et al.*, 1998)

2.5.2.3. Diterpenos

Los diterpenos son compuestos de C_{20} que se pueden encontrar en forma abierta como el fitol, que constituye la cadena lipófila de la clorofila o en forma de estructuras cíclicas con diversos grupos funcionales (-OH, -CO, COOH). Incluso pueden contener nitrógeno y forman alcaloides diterpénicos, como la acotinina (Piñol *et al.*, 2013) (Figura 7).

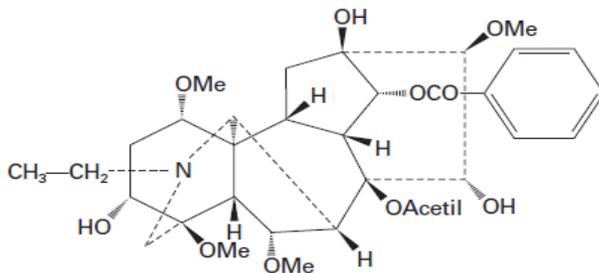


Figura 7. Estructura química de la acotinina (Piñol *et al.*, 2013).

A algunos diterpenos fenólicos se le atribuyen las actividades terapéuticas, entre las que destacan la antibacteriana, la antifúngica, la antirretroviral y la antioxidante (Castillo-García y Martínez-Solís, 2007).

2.5.2.4. Triterpenos

Son compuestos principalmente con C_{30} , son compuestos policíclicos y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Piñol *et al.*, 2013). Se les atribuye propiedades como: bactericida, fungicida, antiinflamatoria y antitumoral. El limonoide es un triterpeno que constituyen la sustancia amarga de los cítricos que actúa como un antiherbívoro, es uno de los repelentes más poderoso contra insectos, la aziradactina se usa en la agronomía para el control de plagas (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004) (Figura 8).

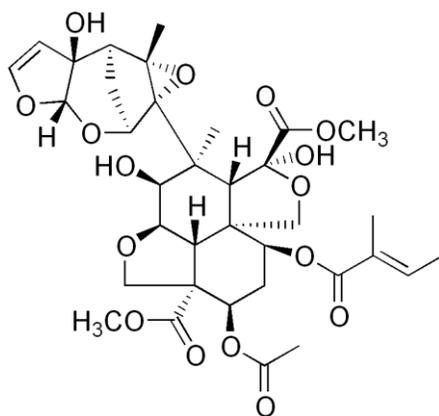


Figura 8. Estructura química de la aziradactina (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004).

2.5.2.5. Tetraterpenos

Son compuestos con C_{40} , presentan una serie de dobles enlaces conjugados y uno o dos anillos con la estructura de la ionona α o β , según la posición del doble enlace (Piñol *et al.*, 2013). Destacan sobre todo los carotenos, que se caracterizan por tener una cadena de 40 carbonos simétrica y sin funciones oxigenadas y por ser generalmente pigmentos (amarillos y rojos), se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo vegetal, algunos tienen interés por ser precursores de la vitamina A, y sobre todo por sus propiedades colorantes (Kuklinski, 2003).

2.5.3. Compuestos fenólicos

Son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilos unidos a un anillo aromático, se consideran importantes antioxidantes en la dieta. Miles de compuestos fenólicos se encuentran en las plantas, se clasifican en diferentes tipos de grupos funcionales, juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y estrés, como la radiación UV y los depredadores. Ellos son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos (Peñarrieta *et al.*, 2014).

2.5.3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos

La estructura química de los compuestos fenólicos comienza con el fenol, que es la molécula básica (Figura 9). El fenol se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). La presencia del anillo aromático hace que los ácidos sean débiles, generando un efecto inductivo en el hidrógeno del grupo hidroxilo. El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes (Peñarrieta *et al.*, 2014).

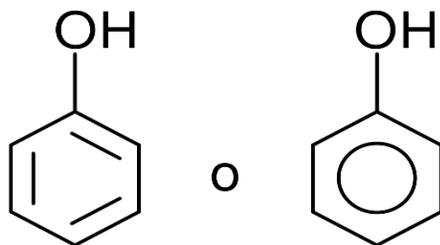


Figura 9. Estructura química del fenol

De acuerdo a Peñarrieta *et al.*, (2014) los compuestos fenólicos se clasifican:

Fenoles simples son compuestos que tienen dos o tres grupos hidroxilos en el anillo aromático, estos compuestos fenólicos tienen una actividad biológica importante, como los antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos. Se muestran las estructuras químicas de algunos compuestos simples (Figura 10).

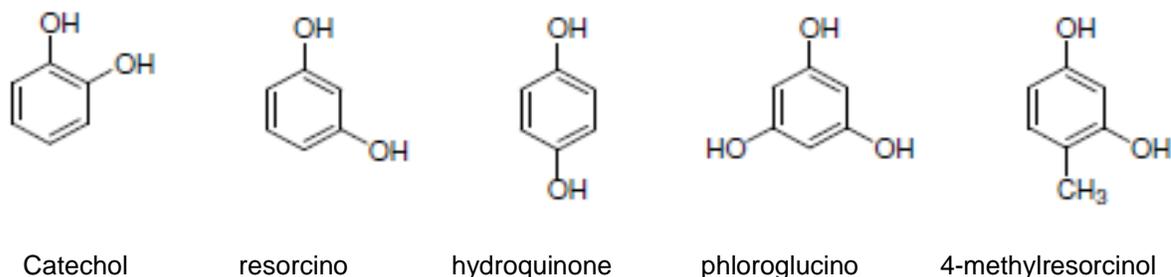


Figura 10. Estructuras químicas de fenoles

Fenoles ácidos consisten en dos grupos; los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos.

- Ácidos hidroxibenzoicos son compuestos que presentan un grupo carboxilo y grupos hidroxilo en un anillo. Como se ilustra en la Figura 11, están presentes en frutas, verduras y cereales.

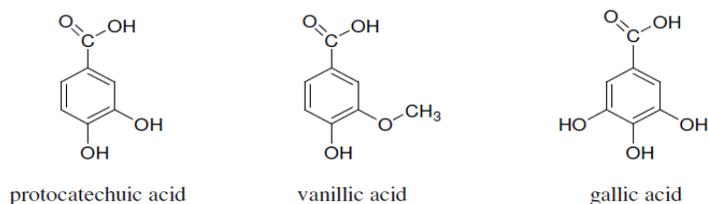


Figura 11. Estructuras químicas de algunos ácidos hidroxibenzoicos

- Ácido hidroxicinámico: esta clase de ácido fenólico se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ en reemplazo del grupo COOH presente en los ácidos hidroxibenzoicos. El doble enlace carbono ($\text{C}=\text{C}$) de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una

deslocalización de los electrones en los enlaces π estabilizando los radicales libres y por lo tanto incrementa la capacidad antioxidante de la molécula. Se encuentra presente en uvas, manzana, arándanos, espinacas, brócoli y en cereales. En la Figura 12 se muestran algunas estructuras de ácidos hidroxicinámicos.

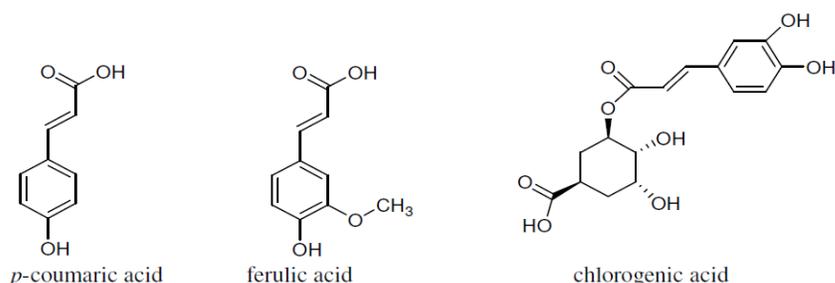


Figura 12. Estructura química de algunos ácidos hidroxicinámicos.

Las cumarinas contienen un anillo aromático unido a un heterociclo. Se consideran compuestos fenólicos, en particular, cuando un grupo hidroxilo está unido a un esqueleto de estructura cumarina. En la Figura 13 se presenta un ejemplo del compuesto umbeliferona.

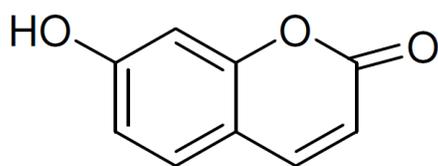


Figura 13. Estructura química de umbeliferona que pertenece al grupo de las cumarinas.

Los polifenoles presentan diversas actividades biológicas, entre ellas: antimicrobianas, antiviral, antitrombotica, hipocolesterolemizante, hepatoprotectora, anticancerígena, antiinflamatoria, antihipertensiva, estrogénica, antioxidante y efecto protector contra enfermedades cardiovasculares (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007).

2.5.3.2. Lignanos y Lagninas

Los lignanos son compuestos fenólicos dímeros, y son derivados de la fenilalanina y alcoholes cinámicos, han demostrado una capacidad antioxidante significativa, y se consideran como fuentes de fitoestrógenos (Figura 14).

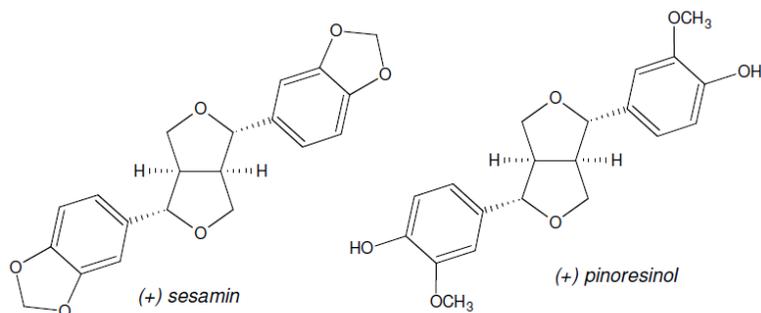


Figura 14. Estructura química de lignanos

2.5.3.3. Flavononas y Flavanoles

Las diferencias estructurales entre estos tipos de flavonoides se encuentran en el anillo C, (Figura 15). El anillo C en flavononas es un anillo heterocíclico saturado de oxígeno de seis miembros con un grupo de cetona en la posición cuatro en el anillo heterocíclico de oxígeno, en flavanoles existe un grupo hidroxilo que se añade al anillo en la posición cinco, cerca del grupo de cetona. Estos flavonoides están presentes en las frutas.

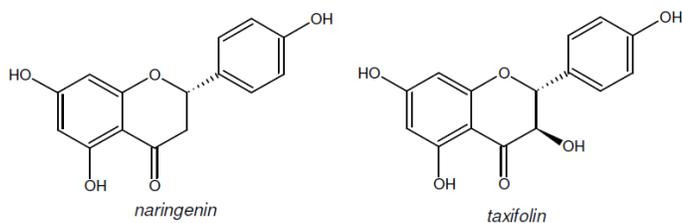


Figura 15. Estructura química de flavona naringina y flavanoles taxifolina.

2.5.3.4. Flavonas y Flavonoles

Tienen estructuras similares a flavononas y flavanoles con la salvedad de que en el anillo C presenta un enlace insaturado en las posiciones dos y tres. Las flavonas y

flavonoles están presentes en alimentos vegetales en forma de compuesto O-glucósidos y como C-glucósidos. Los flavonoides sin uniones azúcar (flavonoides libres) son llamados agliconas y no están presentes en los alimentos vegetales frescos, la flavona más común es apigenin, en los flavonoles, la quercetina (quercetin) (Figura 16).

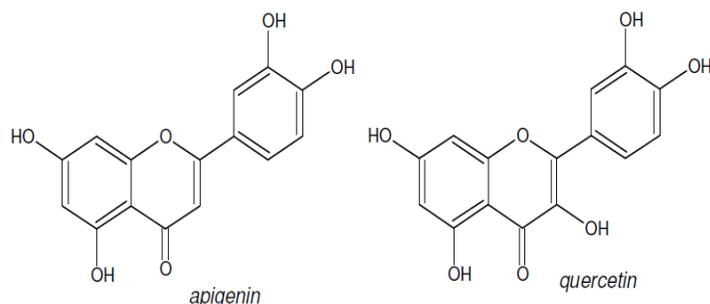


Figura 16. Estructura química de apigenin (flavonas) y quercetina (flavonoles).

Poseen diferentes propiedades farmacológicas, entre ellas: antifúngica, antimicrobiana, antiviral, antiescorbútica, antihemorrágica, antiarrítmica, antioxidantes, antihepatotóxica, antitrombótica, diurética, antiespasmódica y antiinflamatoria (Kuklinski, 2003).

2.5.2.5. Antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, el glucósido es casi siempre la glucosa presente en las moléculas en la posición 3-hidroxilo del anillo C, y cuando la antocianina tiene más de un glucósido la segunda posición del enlace es la posición 5. Las antocianinas se encuentran ampliamente en alimentos de origen vegetal, son responsables de la coloración de los frutos y flores (Figura 17) (Garzón, 2008).

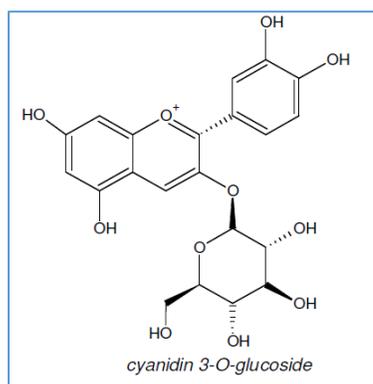


Figura 17. Estructura química de Antocianina 3-glucosido.

2.5.3.6. Taninos

Los taninos son diversos compuestos fenólicos con la particularidad de que se unen a las proteínas y precipitan. El nombre taninos se refiere al proceso de curtido en el que se convierte la piel de los animales en cuero. Los taninos están presentes en hojas, frutos y corteza, estos compuestos complejos son parte de la protección de las plantas contra infecciones y herbívoros. Se clasifican en tres grupos según su estructura química: condensada, hidrolizables y complejos (Olivas-Aguirre, *et al.* 2015).

- Taninos condensados son derivados de flavan-3-ol se encuentra como monómeros, así como unidades estructurales en las cadenas que van desde proantocianidina catequina y/o dímeros derivados de catequina a polímeros de mayor tamaño (Figura 18).

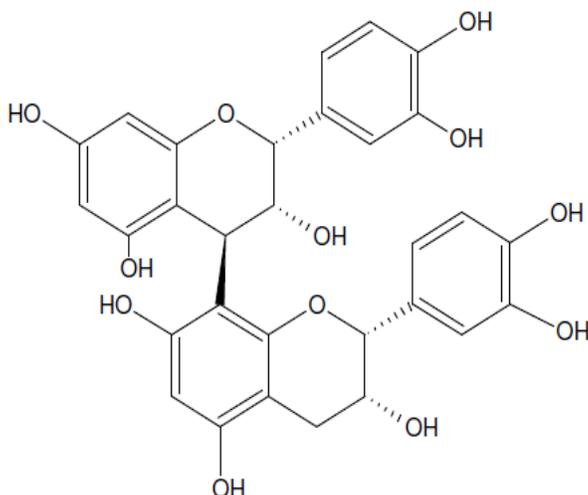


Figura 18. Estructura química de Procyanidina B2

- Taninos hidrolizables consisten principalmente en elagitaninos, galotaninos y ácidos elálgico o formas conjugadas de ácido gálico. Estos se encuentran en fresas y otras plantas.
 1. Galotaninos: son compuestos complejos que consisten básicamente en un núcleo de glucosa de azúcar en otro núcleo, esterificados en ácido gálico y sus derivados, lo que les hace solubles en agua. Una estructura gallotannin básica.

2. Elagitaninos: se componen de un núcleo poliol (glucosa o el ácido quínico) y ésteres del ácido hexahidroxidifenico.
- Taninos complejos contienen unidades de catequina vinculados a galotaninos o elagitaninos. La Acutissimina es un ejemplo de un tanino complejo que se encuentra en el vino tinto (Figura 19).

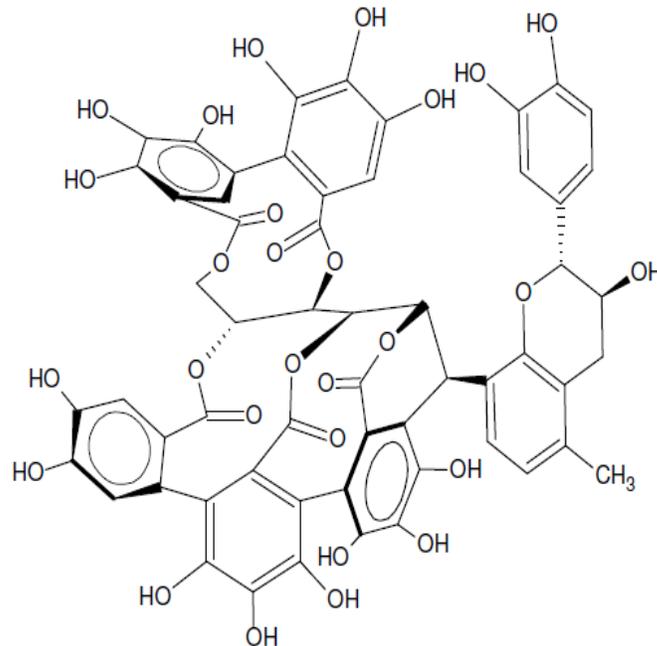


Figura 19. Estructura química de Acutissimina.

2.5.3.7. Biosíntesis de compuestos fenólicos

Las dos rutas por las que las plantas pueden formar compuestos fenólicos son los policétidos, predominantes en bacterias y los hongos; y la ruta del ácido siquimico mayorista de las plantas superiores (Chávez *et al.*, 1996).

Los policétidos, biosintetizados por el camino del acetato-malonato, implica la formación de una hipotética cadena de grupos ceto y metilenos alternantes (cadena policétida: $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-$). Las cadenas policétidas derivan de unidades de malonil CoA ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COCoA}$) y de una unidad de iniciación (un cebador), la cual es, casi siempre, el acetil CoA (CH_3-COCoA), aunque también pueden ser otros CoA-ésteres.

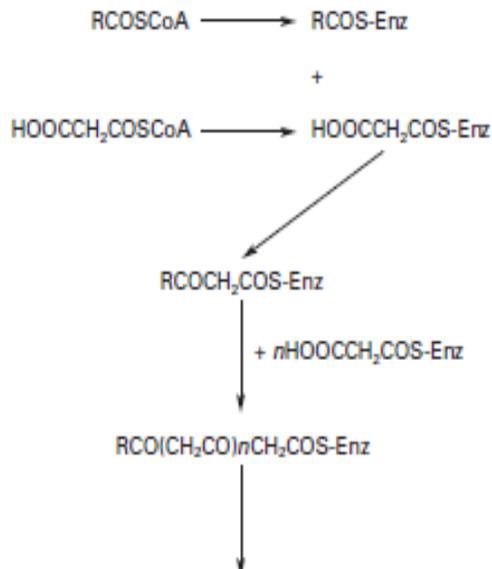


Figura 20. Biosíntesis de los policétidos

Los compuestos fenólicos se forman en las plantas por la vía llamada ácido siquímico. Los fenoles derivados por esta vía derivan del ácido cinámico, biosintetizado de la fenilalanina por la acción de la enzima fenilalanina amonio-liasas, en la formación de los fenoles por esta ruta, el ácido cinámico resultante es siempre oxidado en la posición *para*, lo que origina el ácido 4-cumarico, seguidamente, cuando este ácido es oxidado enzimáticamente de nuevo, el oxígeno se agrega en posiciones adyacentes para dar lugar al modelo 3,4,5-trihidroxi (pirogalol). El origen biosintético determina el modelo de hidroxilación del producto fenólico (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004).

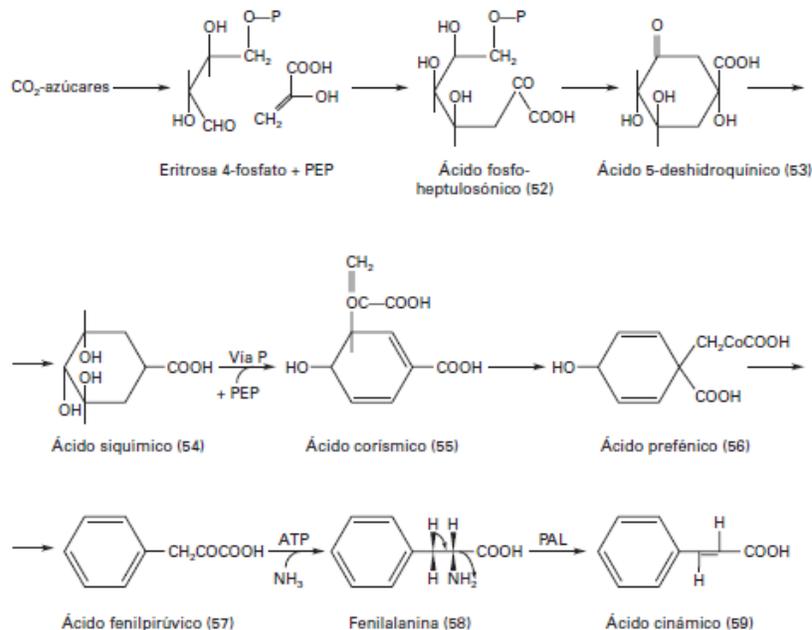


Figura 21. Ruta del ácido siquímico

2.5.4. Glucósidos

Son metabolitos secundarios de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glucósidos de particular interés: saponinas, glucósidos cardiacos y glucósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glucósidos (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004).

2.5.4.1. Saponinas

Las saponinas se encuentran como glucósidos esteroidales, glucósidos esteroideos o bien glucósidos triterpenos. Por lo tanto, son triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004). Son solubles en agua produciendo espuma cuando las soluciones son agitadas, las saponinas esteroidales son compuestos que poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos. Estas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y aunque en mayor o menor medida se encuentran en una gran cantidad de plantas, son especialmente abundantes en algunas familias, entre ellas la *Agavaceae* (Cervantes, 2016) (Figura 20).

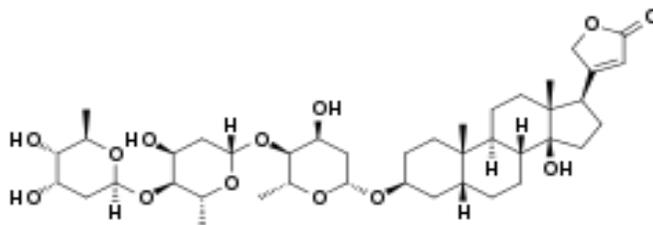


Figura 22. Estructura química de saponina esteroideal (Cervantes, 2016).

Las saponinas esteroidales se encuentran por lo general en familias de la clase monocotiledóneas, como son: *Liliaceae* (*Agavaceae*), *Dioscoreaceae* y *Amaryllidaceae*. En dicotiledóneas, se les ha encontrado en las familias *Solanaceae* y *Scrophulariaceae* (Díaz-Puente, 2009).

Entre los efectos farmacológicos reconocidos para las saponinas se encuentran: antiedematoso, antiinflamatorio, antihemorroidal, cicatrizante, antimicrobiano, antivírico, antimicótico y molusquicida. Son hemolíticas, por lo que resultan muy tóxicas si se administran por vía intravenosa (contacto directo con la sangre) mientras que por vía oral su toxicidad es muy baja, además de ser ictiotóxicas (Kuklinski, 2003).

2.5.4.2. Glucósidos cardiacos

Los glucósidos cardiacos o cardenólidos son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una lactona, que se encuentra de forma natural en forma de glucósidos o de agliconas, el más conocido es la digitoxina (Figura 21) (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004).

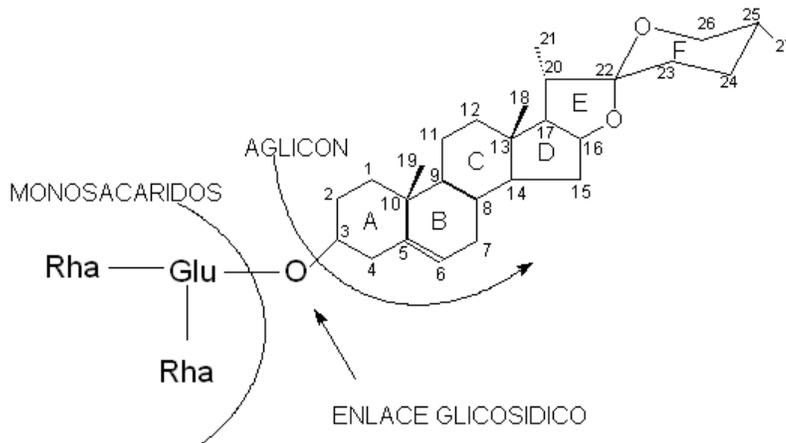


Figura 23. Estructura de la digitoxina de *Digitalis purpurea*.

2.5.4.3. Glucósidos cianogénicos

Son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismo, pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN), un ejemplo es la amigdalina que se encuentra en las semillas de almendra (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004) (Figura 22).

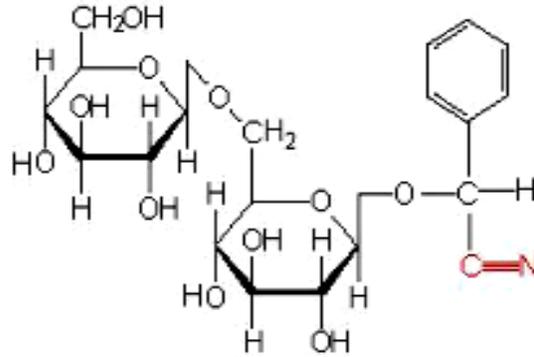


Figura 24. Estructura química de la Amigdalina (Avalos-García y Pérez-Urria, 2004).

2.5.5. Alcaloides

Los alcaloides son una gran familia de más de 15,000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos, aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos). Se sintetizan a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina (Avalos-García y Pérez-Urria, 2009).

De acuerdo a Loyola-Vargas *et al.* (2004), se agrupan de acuerdo a su origen biogénico, con base esta clasificación se tienen cuatro grupos: 1) alcaloides derivados de aminoácidos tales como ornitina/arginina, lisina, histidina, fenilalanina/tirosina, triptófano y del ácido antranílico y el ácido nicotínico; 2) alcaloides purínicos; 3) terpenos aminados y 4) alcaloides policétidos.

- Alcaloides derivados de ornitina y lisina, estos alcaloides están caracterizados por la presencia de anillos de pirrolidina, piperidina, pirolicidina, quinolicidina y piridina (Piñol *et al.*, 2013).
- Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina, estos alcaloides son derivados de fenilalanina y tirosina, pertenecen a los alcaloides de isoquinolina, de bencilisoquinolina.
- Alcaloides biosintetizados del triptófano, el triptófano es el recurso de un gran número de alcaloides que se caracterizan por la presencia de un núcleo indol (Piñol *et al.*, 2013).

En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas, la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivo o analgésico (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

2.6. Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos

El potencial de los extractos vegetales para el control de los hongos fitopatógenos se puede evaluar en diferentes modelos biológicos, como a nivel *In vitro*. En su mayoría los métodos de evaluación de la actividad biológica sobre hongos fitopatógenos consisten en la exposición del hongo a diferentes concentraciones del extracto en medio de agar papa dextrosa (PDA) (Mesa *et al.*, 2019).

El método comúnmente empleado es el envenenamiento del medio de cultivo en el cual se adiciona una concentración conocida de extracto disuelta en el medio de cultivo junto con un testigo absoluto y posteriormente se adiciona el inóculo del fitopatógeno a evaluar (Mesa *et al.*, 2019).

En los métodos que permiten determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de un extracto, el crecimiento del patógeno se sigue por la variación de la densidad óptica (DO) de una suspensión de esporas de cada uno de los hongos en una concentración aproximada de 2.5×10^4 esporas/mL. Se realiza una lectura inicial a los 30 minutos y pasadas las 48 horas a 25°C (Mesa *et al.*, 2019).

III. ANTECEDENTES

A la fecha se han realizado pocos estudios sobre extractos de *Agave americana* L. que proporcionen información acerca de su efecto antifúngico en hongos fitopatógenos. A continuación, se mencionan los trabajos que se han realizado, así mismo se hace referencia de investigaciones sobre actividad antifúngica con diferentes especies.

Existen reporte como el de Lozano-Muñiz (2000), quien determinó la actividad de diferentes extractos de *Agave americana*, *A. lechuguilla*, *A. tequilana*, *A. striata*, y *A. asperrima* sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Usando 10 g hojas y 50 mL de cada solvente; agua, metanol y etanol, para la obtención del extracto, los cuales se obtuvieron por maceración. La concentración mínima inhibitoria (CMI) lo determinó en tubos con 1.8 mL de caldo CD con 0.2 mL de una suspensión de esporas a una concentración final de 1×10^3 . El extracto acuoso de *A. asperrima* de 1.96 ± 0.9 a 2.8 ± 0.25 mg/mL, el extracto metanólico de 0.95 ± 0.37 a 1.5 ± 0.37 mg/mL; el extracto acuoso de *A. striata* de 1.3 ± 0.5 a 1.62 ± 0.37 mg/mL; el extracto metanólico tuvo una CMI dentro del rango de 1.8 ± 0.625 a 2.25 ± 0.62 mg/ml; los extractos acuosos, metanólico de *A. americana* en un rango de 1 a 50 mg/mL no tuvieron efecto inhibitorio del crecimiento; al igual que los extractos acuoso y metanólico de *A. tequilana* y *A. lechuguilla*. Los extractos acuosos, etanólicos y metanólicos de las hojas de las plantas *A. americana*, *A. asperrima* y *A. striata* presentan actividad biológica contra *A. flavus* y *A. parasiticus*, siendo el metanólico el de mayor eficacia.

Verastegui (2000), evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos provenientes de la familia Agavacea e identificó el metabolito activo responsable de la inhibición microbiana para ello utilizaron extractos de cuatro especies, *Agave lechuguilla* Torr. *A. picta* Salm-Dick, *A. scabra* Salm-Dick, *A. lophanta* Schiele, sobre 15 especies microbianas, seis especies de hongos y nueve especies de bacterias. Los hongos mostraron mayor sensibilidad. Los extractos se sometieron a análisis químicos, cromatógrafos y espectroscópicos, los cuales demostraron que el compuesto responsable de la actividad antimicrobiana es una saponina esteroidea espiroestánica.

La diferencia del compuesto activo entre las especies de *Agave* se encuentra en la clase y cantidad de unidades glucosídicas unidas al núcleo principal.

Por otro lado, Sánchez-García (2002), determinó las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los extractos activos contra *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. El estudio se llevó a cabo en Huesca y Cerro del Fraile en García N. L. Usando 20 g de diferentes partes de las plantas de *Agave aspérrima* y *A. striata* (hojas, raíz escapo e inflorescencia) y como solventes metanol, etanol y amortiguador de fosfato pH 7.3, para obtener los extractos mediante el método de Soxhlet. Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en el crecimiento, se utilizaron los extractos en caldo A&M, una vez conocida la concentración inóculo matraces con 25 mL de caldo A&M, con una suspensión de conidias ajustadas a una concentración final de 1×10^6 conidias/mL. A cada uno de los matraces le agrego diferente concentración de los extractos. Los extractos acuosos, etanólicos y metanólicos realizados de las hojas y de la raíz de *A. striata* y *A. aspérrima* no presentaron efecto inhibitorio contra ninguna de las cepas fúngicas probadas; los extractos alcohólicos de la inflorescencia y el escapo de ambos agaves presentaron efectos inhibitorios sobre todas las cepas fúngicas probadas; los extractos acuosos del escapo de los agaves no mostraron efecto biológico. Los extractos acuosos y alcohólicos de la raíz y de las hojas de los agaves probados no presentaron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas de *Aspergillus*.

González-Álvarez *et al.* (2015), evaluaron el efecto de los extractos acuosos y etanólicos de *Agave scabra* sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos presente en la papa y tomate. Para esto se utilizaron hojas de la planta como material vegetal y como solventes 300 mL agua y etanol, el extracto se obtuvo por maceración. Las cepas obtenidas a partir del tomate y de la papa fueron *Penicillium* sp., *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp. Para la evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica, se empleó la técnica pozo en agar sembrando 5, 10, 15 y 20 μ L de la suspensión de esporas de cada uno de los hongos, le aplicó 20 μ L de cada uno de los tratamientos; 1) extracto acuoso, 2) extracto etanólico 3) fungicida captan y 4) alcohol etílico. En la técnica de dilución del extracto en agar, realizó una mezcla de 20 mL de

PDA con Rosa Bengala y agregó 1 mL de cada uno de los tratamientos; 1) extracto acuoso, 2) extracto etanólico 3) fungicida captan 4) OHet y 5) control PDA. En la técnica pozo en agar; los tratamientos presentaron diferencias significativas para las cinco especies de hongos; en la técnica dilución del extracto en agar; los extractos acuosos y etanólico presentaron un porcentaje de inhibición entre 8.33 y 10% en *Aspergillus niger*, en *Botrytis cinérea* el extracto etanólico presentó un porcentaje de inhibición del 90%, en *Mucor* sp el extracto etanólico inhibió un 30%, en *Fusarium* sp. Los extractos etanólicos y acuoso inhibieron el desarrollo entre 16.6 y 15% y en *Penicillium* sp. El extracto etanólico inhibió el crecimiento en un 86% del hongo. De acuerdo a los resultados obtenidos el extracto etanólico presentó un mayor efecto inhibitorio contra los hongos.

Gutiérrez (2015), determinó la actividad antifúngica del extracto etanólico de hojas y raíces de *Agave americana* “cabuya”, para ellos se utilizaron 500 g de hojas y raíces de la planta y 4 L de etanol al 96%. Para la inoculación de *Moniliophthora roreri* se vertieron 10 mL de cultivo PDA mezclado con los extractos en concentraciones de 5, 10, 20 y 30%. Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se utilizó la técnica de dilución en agar, adicionando 10 mL del medio mezclando los extractos en placas Petri hasta su solidificación, luego el inóculo se sembró en las placas que contenían las concentraciones; el extracto de hoja presentó una CMI de 320 mg/mL, el extracto de raíz 300 mg/mL. El extracto etanólico de las hojas de *Agave americana* “cabuya” presenta una mayor actividad antifúngica, con respecto al extracto etanólico de las raíces.

Barrón-Hernández (2016), evaluó la actividad antimicrobiana y antifúngica de las saponinas presentes en el extracto de la pulpa de *Agave lechuguilla* en microorganismos aislados de alimento, el estudio se llevó a cabo en el Municipio de San Bartolo, San Luis Potosí. Usó hojas de la planta para llevar a cabo la extracción por medio de maceración utilizando una mezcla de metanol y agua. La presencia de saponinas en el extracto se determinó de manera cualitativa por cromatografía en capa fina. Para determinar la actividad antifúngica de las saponinas presente en el extracto se realizó tres métodos diferentes: germinación de esporas, difusión en pozo y medio

envenenado. El método de germinación de esporas mostró tener inhibición de la mayoría de los hongos evaluados, para *Fusarium graminearum* fue de 141.17 mg/mL, *Penicillium digitatum* 281.30 mg/mL, *Penicillium rubrum* 267.79 mg/mL, *Rhizopus stolonifer* 142.55 mg/mL y *Fusarium oxysporum* 113.96 mg/mL, el método de cinética de inhibición, *Kurthia gibsonii* 298.12 mg/mL y para *Lactobacillus plantarum* de 324.56 mg/mL. El método más adecuado para evaluar la inhibición en hongos filamentosos es el método medio envenenado o la inhibición de crecimiento.

Alcázar-Valle (2017), caracterizó las saponinas de *Agave durangensis* y *Agave salmiana* y determinó el efecto en la pared y membrana celular en dos cepas de levaduras aisladas de procesos de fermentación de bebida de agave y evaluó la actividad saponinasa, para ello empleo hojas de *A. durangensis* y *A. salmiana*, los extractos se obtuvieron mediante Soxhlet utilizando como solventes hexano, cloroformo y metanol. Para analizar el efecto de las saponinas empleo las levaduras de *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae*. Realizó un cultivo continuo con jugo de *A. tequilana* adicionando concentraciones de 0.75, 1.5 y 3.0 mg/mL de extracto de saponinas de *A. durangensis* y *A. salmiana*. En donde el extracto de *A. durangensis* mostró un mayor efecto inhibitorio que el *A. salmiana* en ambas especies de levaduras. La composición de la pared celular mostró cambios específicos en la relación β -glucanos/mananos. Hubo una mayor resistencia al efecto inhibitorio de las saponinas por parte de *K. marxianus*.

Rojas (2017) evaluó las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de *Agave durangensis* presentes en extractos de seis líneas morfológicas. Utilizó una técnica espectrofotométrica para evaluar las propiedades antioxidantes de los extractos, evaluó las propiedades antibacterianas contra dos bacterias patógenas de interés humano. Los extractos de *Agave durangensis* presentó un halo de inhibición promedio de 12 mm contra *Staphylococcus aureus* y 15 mm para *Escherichia coli*. Se presentó el mismo comportamiento para cada uno de los extractos de las seis líneas morfológicas de *Agave durangensis*.

Salazar-Pineda (2015), evaluó la actividad antibacteriana y antiinflamatoria de extractos y fracciones de hojas de *Agave cupreata*. Las hojas de *A. cupreata* fueron

extraídas por maceración usando disolventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano y acetona. Las fracciones del extracto de diclorometano se obtuvieron mediante cromatografía en columna. La actividad antibacteriana se evaluó usando el método de doble dilución en agar y microdilución en caldo. La actividad antiinflamatoria se realizó utilizando los modelos de edema auricular en ratón inducido con TPA y edema subplantar de ratón inducido con λ . La CMI de los extractos de hexano y diclorometano fue de 16 mg/ml contra *Staphylococcus* y *Pseudomonas aeruginosa* de las fracciones obtenidas del extracto de diclorometano, la F-34 fue la más activa contra todas las bacterias ensayadas (CMI de 2-16 mg/mL). Para la actividad antiinflamatoria, los extractos de diclorometano y acetona presentaron un efecto inhibitorio en la formación de los edemas de 64.29% (ED50= 107.55 mg por kg de peso) y 48.82% respectivamente cuando la inflamación fue inducida con λ -carragenina y 62.47% (ED50=1.21 mg por oreja) y 40.82% al ser inducido con TPA. Los extractos de hexano y diclorometano de hojas de *A. cupreata* presenta actividad antibacteriana para cepas sensibles como para aislados clínicos de *Staphylococcus* resistentes a la metilicina, además es una fuente importante de compuestos con acción antiinflamatoria.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Determinar la actividad antifúngica del extracto de *Agave americana* L. sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc., hongo patógeno del mango y la papaya.

4.2. Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *A. americana* L.
- Evaluar mediante ensayos *in vitro* la capacidad inhibitoria del extracto de *A. americana* L. en el hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*.

V. ZONA DE ESTUDIO

5.1. Zona de colecta

La colecta del material biológico se realizó en el municipio de Comitán la altiplanicie central de Chiapas conocida como Meseta Comiteca, tiene una superficie de 27,870 km² y está localizada a una altitud por arriba de los 1,000 msnm en el área central del estado de Chiapas, entre los 91°42' y 93°18' de longitud Oeste y 16°07' a 17°32' de latitud norte. Colinda al norte con los municipios de Amatenango del Valle, Chanal y Las Margaritas; al este con los municipios de las Margaritas, La Independencia y la Trinitaria; al sur con los municipios de la Trinitaria y Tzimol; al oeste con los municipios de Tzimol, Socoltenango, Las Rosas y Amatenango del valle (INEGI, 2010) (Figura 23).

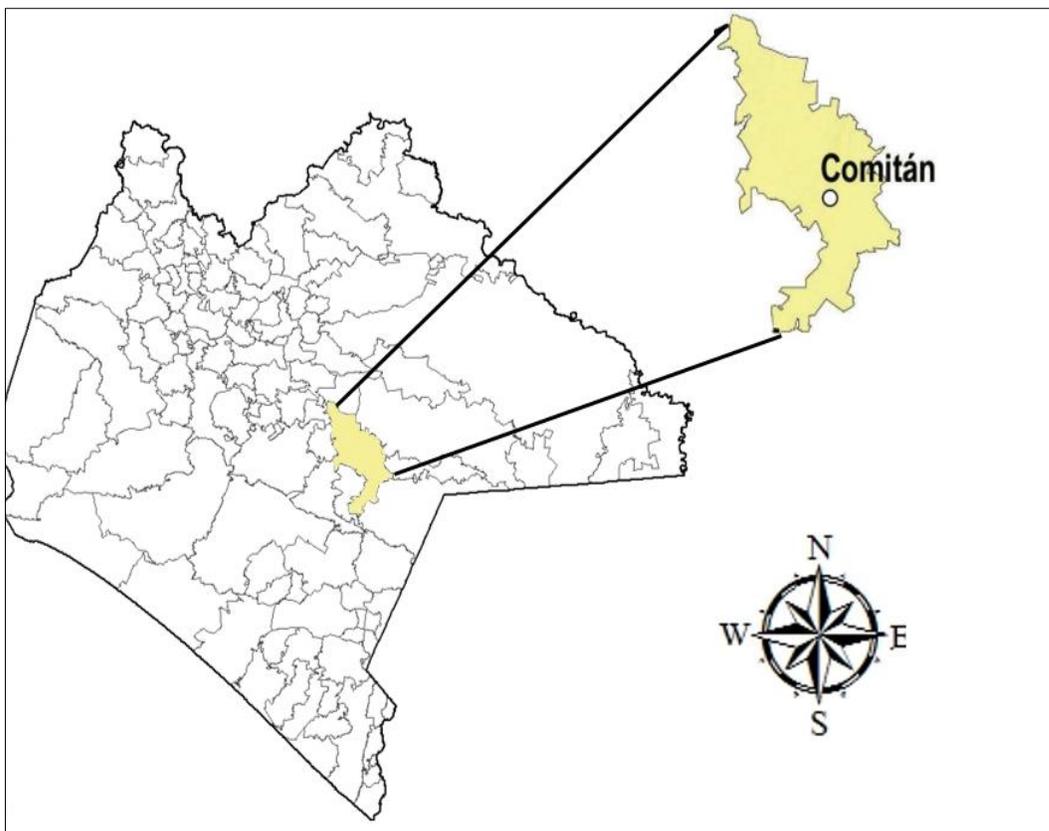


Figura 25. Ubicación del área geográfica del municipio de Comitán

5.2. Clima

El clima que predomina es el templado subhúmedo con lluvias en verano, el cual abarca el 58.36% de la superficie municipal. Con temperatura media anual de 13-17°C, lluvias en verano entre los 1,100- 1,600 mm anuales y con heladas posibles en áreas deforestadas a más de 2,000 msnm (López-Sánchez, 1993; Alba-López *et al.* 2003).

El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano se presenta con variaciones en las condiciones de humedad, la más húmeda se presenta con un 7.93% y la de humedad media con el 23.06 %. El Clima Aw(w) cálido subhúmedo con lluvias en verano, se presenta también con variaciones en las condiciones de humedad, la menos húmeda se presenta con un 8.28% y la de humedad media abarca un 2.34% de la superficie municipal. En los meses de mayo a octubre, la temperatura mínima promedio va de los 6°C a los 21°C, mientras que la máxima promedio oscila entre 18°C y 33°C. En el periodo de noviembre - abril, la temperatura mínima promedio va de 3°C a 15°C, y la máxima promedio fluctúa entre 15°C y 33°C. En los meses de mayo a octubre, la precipitación media fluctúa entre los 800 mm y los 1400 mm, y en el periodo de noviembre - abril, la precipitación media va de los 50 mm a 350 mm (INEGI, 2005).

5.2.1. Hidrología

Las principales corrientes del Municipio son: los ríos perennes Grandes y Nashuac, el arroyo Nihuanucún (INEGI, 2010).

La mayor parte del territorio municipal se encuentra dentro de la subcuenca Río Aguacatenco (de la cuenca río Grijalva-La Concordia) abarcando una superficie del 59.41% y en menor proporción en las subcuencas Río Comitán de Domínguez con 25.72%, Las Margaritas con el 2.25%, Tzaconejá (de la cuenca Río Lacantún) con el 0.01% y la subcuenca Presa la Angostura (de la cuenca río Grijalva-La Concordia) que cubre el 12.58% de la superficie municipal (INEGI B, 2010).

El Río Grande, tiene una gran importancia para la economía de la zona, ya que además de constituir la principal fuente de recarga del acuífero que abastece de agua potable a el área urbana y a las localidades rurales cercanas, se emplea para el regado de una importante superficie agrícola establecida, principalmente en la zona

denominada La Ciénega y las localidades de San José Yocnajib, el Rosario Yocanajib, Guadalupe Quistaj y El Prado. Los principales cuerpos de agua en el Municipio son las lagunas de Juznajib, Chucumaltik y Coilá (INEGI, 2010).

5.2.2. Vegetación

El municipio presenta cobertura vegetal, con algunas fases de vegetación secundaria, principalmente el Bosque de Pino-Encino con el 21% de cobertura, el bosque de encino con el 19.50%, el Bosque de Encino-Pino con el 5.26%, seguido de la selva baja con el 3.6% y el Bosque de Pino con el 1.855, el tipo de vegetación que menos se presenta es la vegetación de galería con el 0.01% (INEGI, 2005).

5.2.3. Fauna

En lo relativo a la fauna en el municipio existen una gran variedad de especies de las cuales sobresalen: boa (*Boa constrictor* L.), iguana roca (*Ctenosaura pectinata* Wiegmann, 1834), correcaminos (*Geococcyx californianus*), chachalacas (*Ortalis erythroptera*), gavián blanco (*Elanus leucurus*), comadreja (*Mustela nivalis*), entre otras (INEGI, 2005).

VI. MÉTODO

6.1. Colecta del material vegetal

En una hectárea se seleccionaron siete plantas de *Agave americana* que estuvieran sanas, vigorosas, las plantas tenían siete años de edad, se contaron las hojas de las planas seleccionadas, de aproximadamente de 1 m de largo x 15 cm de ancho. Se colocaron en bolsas de manta para su traslado al Laboratorio del Banco de Germoplasma Vegetal, ICBIOL-UNICACH. Para posteriormente realizar el trabajo de investigación.

6.2. Preparación de extractos de *Agave americana* L.

6.2.1. Extracto etanólico

Las hojas de *A. americana* se cortaron en trozos aproximadamente de 25 cm, posteriormente se colocó en papel periódico y se secaron a sombra a una temperatura ambiente durante 40 días. Después del secado los trozos se molieron homogéneamente en una licuadora hasta obtener un polvo fino. Posteriormente el polvo se pasó por un tamiz de aproximadamente 2.5 mm para eliminar la fibra de las hojas y únicamente obtener la pulpa. Este proceso se realizó en el Banco de germoplasma vegetal dentro del Instituto de Ciencias Biológicas UNICACH.

El solvente utilizado para la obtención del extracto fue etanol al 96% de la marca Baker, para esto se pesaron 250 g de la hoja molida de *A. americana* L. y se le agregaron 1 000 mL del solvente en proporción (1:4), es decir por cada gramo de material molido se le agregó 4 mL del solvente, se dejó macerar por 24 h a temperatura ambiente, con una agitación frecuentemente. Transcurrido el tiempo se concentró a presión reducida en un evaporador rotatorio a 120 rpm a 78 °C de temperatura (Sarker y Nahar, 2012). Después de haber separado el extracto del solvente, el extracto concentrado se depositó en un frasco limpio previamente pesado y el solvente se colocó de nuevo con el material vegetal por otras 24 h, el procedimiento se hizo por triplicado.

6.2.2. Infusión

Se pesó 250 g de hoja de *Agave americana* L. fresco picado en cuadros pequeños y se colocó en una bolsa de manta la cual se colocó dentro de un vaso de precipitado de 2 000 mL y se añadió 1 000 mL de agua estéril destilada. Posteriormente se colocó en una parrilla eléctrica hasta ebullición, una vez alcanzada su punto de ebullición se retiró de la parrilla y se situó dentro de la campana de flujo laminar por 23 h. Una vez transcurrido el tiempo se vertió en una botella de vidrio color ámbar para evitar el contacto con la luz.

6.2.3. Extracción asistida en microonda con alcohol al 70% + agua (Hidroalcohólico)

Se pesó 250 g de hoja de *A. americana* L. picado en cuadros pequeños y se colocó dentro de una bolsa de manta. Posteriormente se colocó en un vaso de precipitado de 2 000 mL, se le añadió 100 mL de alcohol al 70% + 300 mL de agua destilada estéril hasta cubrir totalmente las bolsas con el material, se dejó reposar por 24 h y posteriormente se extrajo por medio de un microonda de la marca Samsung 1000 W, añadiendo 600 ml de agua destilada estéril, haciendo una relación de 1:9, es decir 100 mL de alcohol al 70% + 900 mL de agua destilada estéril, se colocó dentro del microonda, se puso por tres minutos, el sobrenadante se colocó un botella de vidrio de color ámbar para evitar la exposición a la luz y evitar alguna alteración en el extracto.

6.2.4. Rendimiento de los extractos

Los disolventes utilizados en los extractos se terminaron de eliminar a temperatura ambiente, se pesaron los extractos en una balanza analítica estándar. Posteriormente se determinó el rendimiento (R%) del extracto seco y fresco, por diferencia de peso utilizando la siguiente fórmula (Navarrete *et al.*, 2010):

$$R = \left(\frac{\text{peso del extracto}}{\text{peso del material vegetal}} \right) \times 100$$

6.3. Identificación de grupos de Metabolitos Secundarios

Se preparó una solución madre del extracto utilizando 50 mg, esto se diluyó en 10 mL de etanol al 96% quedando una concentración final de 5 mg/mL.

A continuación, se distribuyó 1 mL de la solución anterior en 8 tubos de ensayo, se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente. Las pruebas se realizaron por duplicado y los resultados se anotaron mediante un sistema de cruces para especificar la presencia o ausencia de los grupos de metabolitos siguiendo los criterios de: abundante (+++), media (++), ligera (+) y ausencia (-).

6.3.1. Alcaloides: Prueba con el reactivo de Dragendorff

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se añadió 1 mL de HCL al 10%, y 2 gotas del reactivo de Dragendorff. Un precipitado marrón indicó la presencia de este metabolito (Domínguez, 1973).

6.3.2. Fenoles: Prueba de cloruro férrico

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se le añadió 1 mL de etanol al 96% más 3 gotas de FeCl_3 al 3% en etanol. La aparición de una coloración verdosa correspondiente a una reacción positiva (*Idem*).

6.3.3. Flavonoides: Prueba de Shinoda

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se le añadió 1 mL etanol al 96% más tres trocitos de magnesio y 2 gotas de HCl concentrado. El desarrollo de un color naranja indica la presencia de flavona, color rojo para flavonona, rojo azulado para flavonol y violeta para xantinas (Domínguez, 1973).

6.3.4. Glucósidos: Prueba de Molish

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se le añadió 1 mL de etanol al 96%, luego se agregaron 2 gotas de alfa-naftol al 5% en etanol y 1 mL de H_2SO_4 gota a gota dejando resbalar por las paredes del tubo. La formación de un anillo de color violeta indica una reacción positiva (Plumer, 1981).

6.3.5. Saponinas: Prueba de espuma

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se añadió 1 mL de agua destilada, se tapó y agitó durante 30 segundos, la aparición de espuma durante 2 minutos indica la presencia de saponinas (Domínguez, 1973).

6.3.6. Taninos: Prueba para taninos hidrolizables y condensados

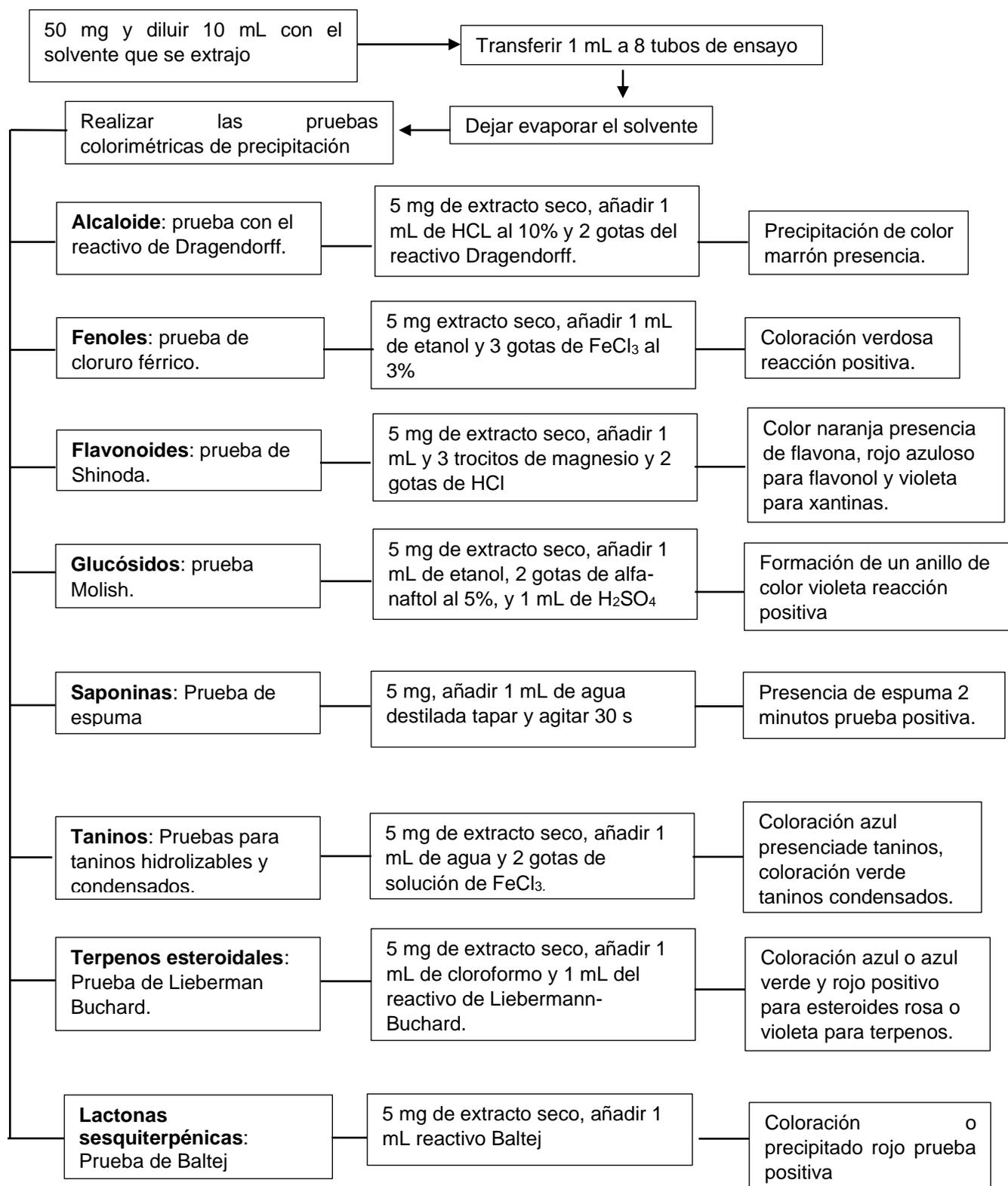
A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se le añadió 1 mL de agua y 2 gotas de solución acuosa de FeCl_3 al 2%. La aparición de una coloración azul indica que se trata de taninos y una coloración verde la presencia de taninos condensados (García-Rincón, 2005).

6.3.7. Terpenos-esteroidales: Prueba de Liebermann-Buchard

A un tubo de ensayo con 5 mg de extracto seco, se le añadió 1 mL de cloroformo y 1 mL del reactivo de Liebermann-Buchard. La reacción fue positiva para esteroides si se desarrolló una coloración azul o azul verde y rojo, rosa o violeta si eran terpenos (Domínguez, 1973).

6.3.8. Lactonas sesquiterpénicas o Sesquiterpenlactonas: Prueba de Baljet

A un tubo con 5 mg de extracto seco, se le agregó 1 mL de etanol al 96% y se agitó. Posteriormente se le añadió 1 mL del reactivo de Baljet. La presencia una coloración roja (++) o precipitado de color rojo (+++) indicó una prueba positiva (Miranda Martínez, 2002).



6.4. Colecta del material biológico

Para el aislamiento de los patógenos se realizó un recorrido por el mercado de Ocozocoautla de Espinosa Chiapas, para adquirir las frutas de mango y papaya que presentan la característica de la antracnosis.

El material vegetal con la sintomatología de los patógenos se llevó al laboratorio de fitopatología en el Campo Experimental Centro de Chiapas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), y se procesaron las muestras (Lavado, desinfección de tejido enfermo con hipoclorito de sodio al 5% durante 5 min) para realizar los aislamientos. Una vez en el laboratorio y en condiciones estériles se cortaron los fragmentos de tejidos enfermos y sanos y fueron sembrados en cajas Petri con medio de papa-dextrosa-agar (PDA) e incubados a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, luego se realizó la purificación y multiplicación de los aislamientos en medio PDA.

6.5. Ensayo para determinar la actividad antifúngica

Para determinar la actividad antifúngica del extracto de *A. americana* se utilizó el método de medio envenado, el cual es el más utilizado para hongos filamentosos.

El ensayo consistió en preparar el medio de cultivo de PDA con los extractos a diferentes concentraciones (Cuadro 3), posteriormente se colocó un disco de agar de 5 mm de diámetro aproximadamente con el micelio de *C. gloeosporioides*. Se midió el crecimiento radial y los tratamientos usados como testigo fueron: el testigo químico (fungicida= PDA + Mancozeb) y testigo absoluto (medio de PDA sin extracto o compuesto) (Teshima *et al.*, 2003).

Cuadro 3. Preparación de extractos de *A. americana* L sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya y mango.

Tratamiento	Extracto/compuesto	Agua	PDA
Etanólico	2400 mg	80 mL	3.12 g
Acuoso	32 mL	48 mL	
Hidroalcohólico	32 mL	48 mL	
Testigo químico 1	0.2 g	80 mL	
Testigo químico 2	0.192g		
Testigo absoluto	0	80 mL	

Testigo químico 1: Fungicida en la concentración recomendada para mango

Testigo químico 2: Fungicida en la concentración recomendada para papaya

6.6. Cálculo de Porcentaje de Inhibición Relativa

Al extracto se le determinó el Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR), empleando la fórmula de (Rivero- López *et al.*, 1997).

$$PIR = \left(\frac{\bar{x} \text{Diámetro de halo de inhibición del extracto}}{\bar{x} \text{Diámetro del halo de inhibición del control}} \right) \times 100$$

6.7. Diseños estadísticos

6.7.1. Variables a evaluar

Las variables que se estudiaron fueron: el crecimiento del micelio, para los cuales se midió a cada una de las placas el crecimiento micelial (diámetro de la colonia mm), considerando el crecimiento del testigo absoluto como el 100 % de desarrollo.

6.7.2. Análisis estadístico

Se empleó el diseño completamente al azar con cinco tratamientos incluidos dos testigos (químico [fungicida] y absoluto) y tres repeticiones por tratamiento, se realizó análisis de varianza a cada una de las variables cuantificadas y se aplicó la prueba de comparación de media de Tukey al 5% utilizando el programa IBM SPSS statistics 26.

VII. RESULTADOS

7.1. Aislamiento e identificación del fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides*

La identificación del patógeno se basó de acuerdo en la forma de crecimiento radial, coloración (Figuras 26); la forma de sus esporas (Figura 27), así mismo también su micelio (Figura 28).

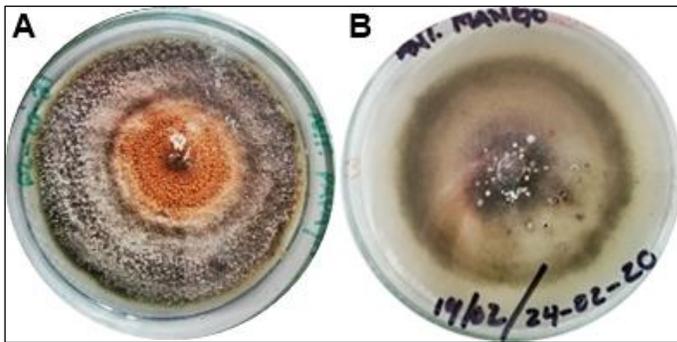


Figura 26. Hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* aislado de los frutos. A: papaya; B: mango.

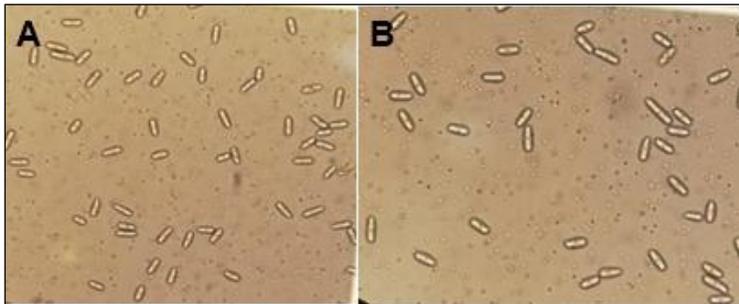


Figura 27. Esporas aisladas de *C. gloeosporioides*. A: mango; B: Papaya



Figura 28. Micelio de *C. gloeosporioides* aislado de la papaya.

7.2. Rendimiento de los extractos

A partir de 250 g de hojas de *A. americana* L. se obtuvo el rendimiento de los extractos etanólicos, hidroalcohólico y acuoso (Cuadro 4), el mayor rendimiento se obtuvo con el extracto etanólico, seguido del hidroalcohólico, mientras que el menor rendimiento fue el obtenido por decocción (acuoso).

Cuadro 4. Rendimientos de los extractos de *Agave americana* L.

Extractos	Peso	Rendimiento del extracto	Porcentaje de rendimiento
Etanólico	250 g seco	25.79 g	10.31%
Hidroalcohólico		22.71 g	9.08 %
Acuoso		11.79 g	4.71%

Las características físicas de los extractos son: coloración verde oscura y de consistencia viscosa para el extracto etanólico, mientras que el hidroalcohólico y acuoso presentan una coloración amarilla y consistencia arenosa (Figura 29).

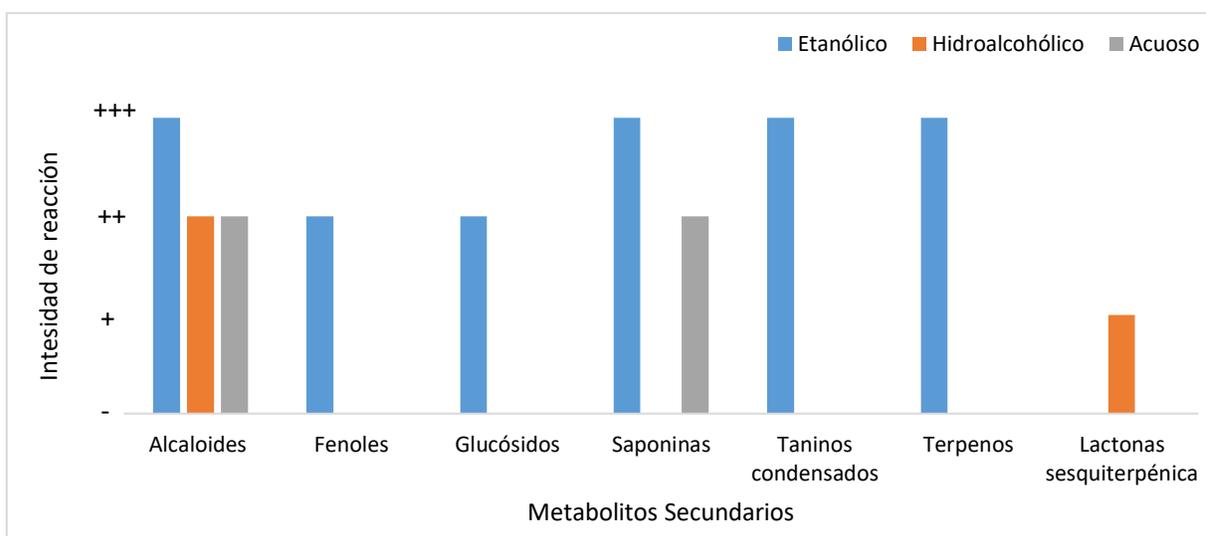


Figura 29. Extractos hidroalcohólicos, acuoso y etanólico de *Agave americana* L.

7.3. Grupos de metabolitos secundarios

Se identificaron los grupos de metabolitos secundarios (MS) presentes en los diferentes extractos de *A. americana* L. mediante pruebas de coloración y precipitación. Se observaron siete grupos: alcaloides, fenoles, glucósidos, saponinas, taninos, terpenos y lactonas sesquiterpénicas, las cuales variaron en presencia e intensidad con respecto al solvente utilizado, cabe mencionar que se extrajeron de

formas diferentes. El grupo de alcaloides y saponinas está presente en los tres extractos de *Agave americana* L. (Figura 29).



Gráfica 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales de *A. americana* L.

El extracto etanólico es el que presentó una mayor diversidad de grupos de MS, seis de los ocho evaluados, alcaloides, taninos, saponinas y terpenos en intensidad alta, fenoles y glucósidos en intensidad media, seguido de los extractos hidroalcohólicos que presentaron dos grupos, alcaloides en media y lactonas sesquiterpénicas en baja, este último grupo solo estuvo presente en este extracto. En los extractos acuosos solo se encontraron alcaloides y saponinas en intensidad media (Gráfica 1).

Los fenoles, glucósidos, terpenos y taninos de tipo condensados solo estuvieron presentes en los extractos etanólicos, los flavonoides fue el único grupo que no se determinó en ningún extracto.

7.4. Efecto de los extractos de *Agave americana* L. sobre antracnosis de papaya

Los extractos: etanólico, acuoso e hidroalcohólico, más el testigo químico presentaron efecto inhibitorio sobre el crecimiento radial de *C. gloeosporioides* aislado de la papaya, después de 12 días presentaron una disminución del crecimiento micelial respecto al testigo, en el extracto acuoso se observa un halo de color amarillo oscuro alrededor de la muestra depositada y no se observa crecimiento del fitopatógeno ,

mientras que el extracto hidroalcohólico (obtenido por microondas) si hubo crecimiento micelial (28.55 mm) (Figura 30).

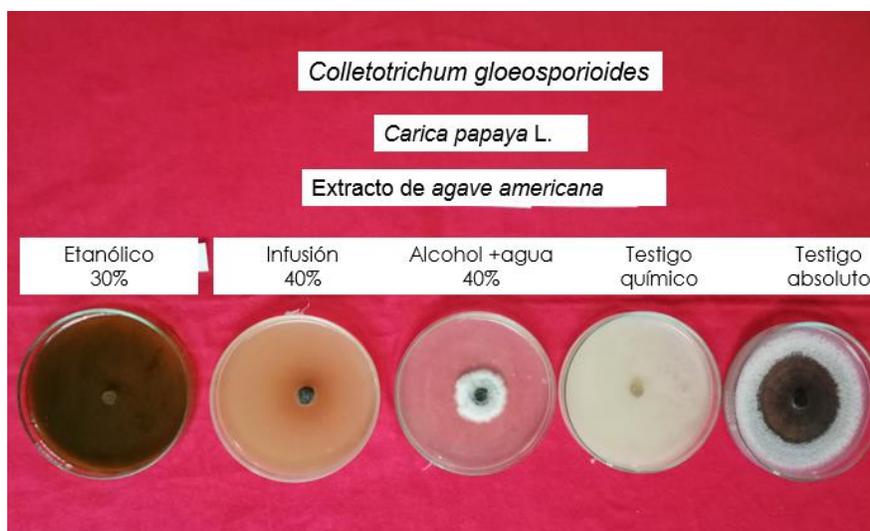


Figura 30. Efectos de los extractos de *Agave americana* L., sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya.

Los extractos etanólicos y acuosos fueron activos frente a *C. gloeosporioides* aislado de papaya, ya que no permitieron el crecimiento de la colonia (promedio de 0 mm), el extracto hidroalcohólico permitió en promedio 28.55 mm de crecimiento, mientras que en el testigo químico y el testigo absoluto 2.21 mm y 54.19 mm respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto *in vitro* de los extractos de *A. americana* L. sobre el hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* aislado de la papaya.

Tratamientos	Diámetro de micelio (mm)
Etanólico	0a
Acuoso	0a
Hidroalcohólico	28.55 b
Fungicida (testigo químico)	2.21a
Testigo absoluto	54.19 c

El análisis de varianza indica que no existe diferencia estadística significativa entre los extractos etanólicos, acuoso y el testigo químico, sin embargo, hay diferencia significativa con el extracto hidroalcohólico y el control químico (manzate mancozeb 200) de acuerdo a la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) (Figura 29).

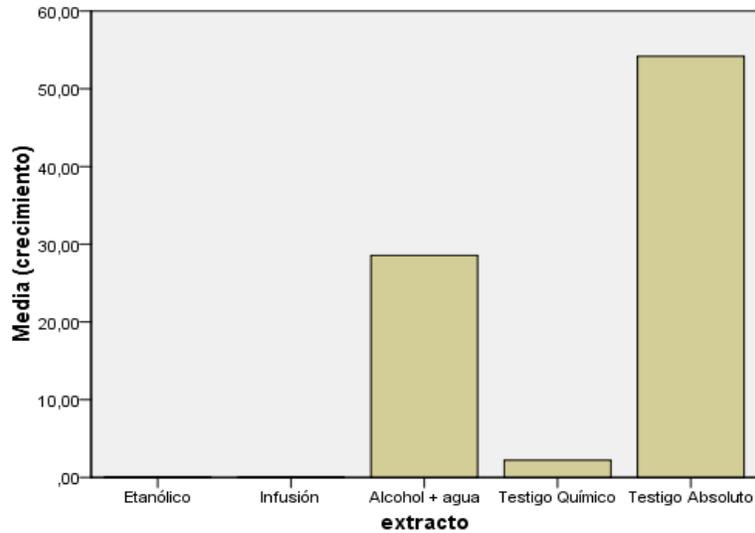
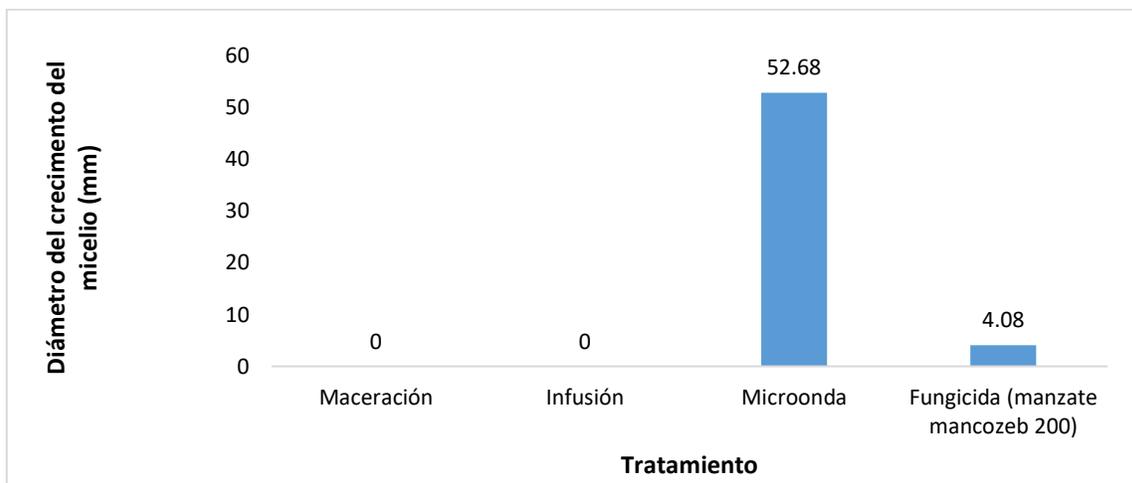


Figura 31 Actividad antifúngica de los extractos de *Agave americana* L. sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya

7.4.1. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya.

Se determinó la eficiencia de los extractos obtenidos por diferentes métodos con relación al testigo absoluto (al que no se le aplica ningún compuesto) el cual tuvo un promedio en el diámetro de crecimiento de 54.19 mm (crecimiento del micelio aislado de la papaya) (Cuadro 4).



Gráfica 2. Crecimiento del micelio de *C. gloeosporioides* aislado de la papaya en los diferentes tratamientos.

El mayor efecto fue el obtenido con los extractos etanólico y acuoso frente a *C. gloeosporioides* ya que no existió desarrollo del fitopatógeno, la eficiencia de estos extractos es mayor que el fungicida (manzate mancozeb 200) pues se asume que el máximo efecto inhibitorio es el producido por el mismo (Cuadro 4, Gráfica 2).

7.5. Efecto de los extractos de *Agave americana* L. sobre antracnosis de mango.

El efecto inhibitorio de los extractos: etanólico, hidroalcohólico y acuoso, así como el control químico sobre el crecimiento micelial radial de *C. gloeosporioides* aislado del mango muestran que a los 12 días después de su siembra presentan una disminución del crecimiento micelial con respecto al testigo absoluto, en el extracto acuoso se observa un halo de coloración de amarillo oscuro. En el extracto hidroalcohólico se observa crecimiento micelial (Figura 32).

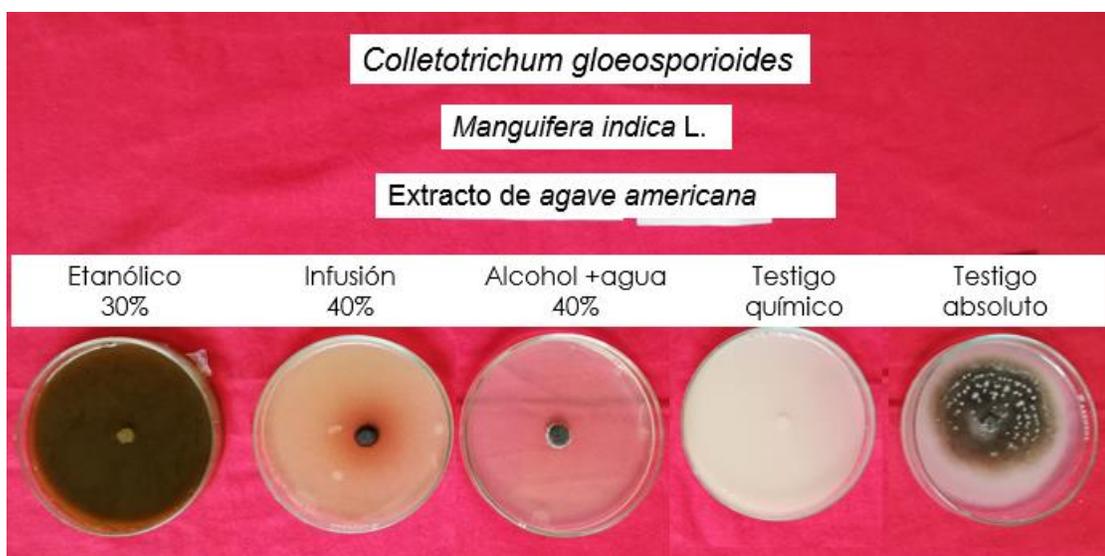


Figura 32. Efecto de los extractos de *Agave americana* L. sobre *C. gloeosporioides* aislado del mango.

Los extractos etanólicos y acuosos fueron activos frente a *C. gloeosporioides*, presentaron un halo de inhibición promedio de 0 mm, sin embargo, el extracto obtenido hidroalcohólico (alcohol 70%+agua destilada) presentó un crecimiento en promedio de 8.74 mm, mientras que el testigo químico y el testigo absoluto 0 mm y 38.61 mm respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto *in vitro* de los extractos de *A. americana* L. sobre el hongo fitopatígeno *C. gloeosporioides* aislado del mango.

Extracto	Diámetro de micelio (mm)
Etanólico	0a
Acuoso	0a
Hidroalcohólico	8.74 ^a
Fungicida (testigo)	0a
Testigo absoluto	38.61b

El análisis de varianza indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los extractos etanólicos, acuoso e hidroalcohólico con respecto al testigo químico (manzate mancozeb 200), de acuerdo a la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) (Figura 31).

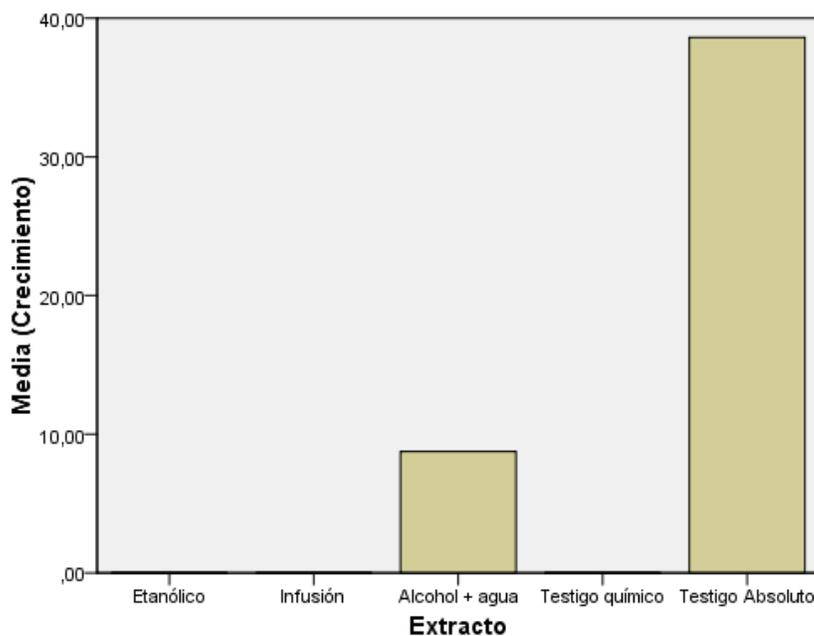
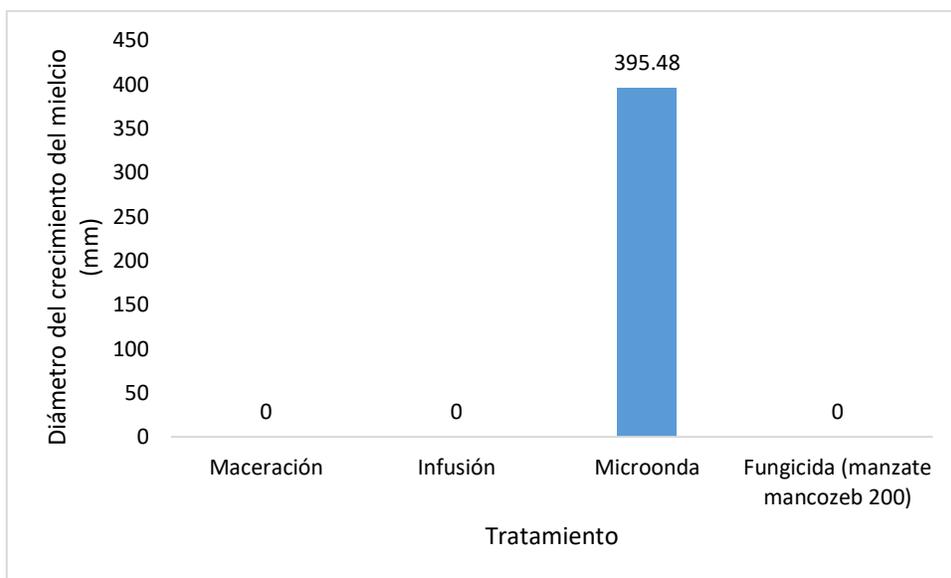


Figura 33. Actividad antifúngica de los extractos de *Agave americana* L. sobre el diámetro de la colonia *C. gloeosporioides*.

7.5.1. Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR) sobre *C. gloeosporioides* aislado del mango.

Se determinó la eficiencia de los extractos obtenidos por diferentes métodos con relación al testigo absoluto (al que no se le aplica ningún compuesto) el cual tuvo un

promedio en el diámetro de crecimiento de 38.61 mm (crecimiento del micelio aislado del mango) (Cuadro 5).



Gráfica 3. Crecimiento del micelio de *C. gloeosporioides* aislado del mango sobre los diferentes tratamientos

El mayor efecto fue el obtenido con los extractos etanólico y acuoso frente a *C. gloeosporioides* ya que no existió desarrollo del fitopatógeno, la eficiencia de estos extractos es mayor que el fungicida (manzate mancozeb 200) pues se asume que el máximo efecto inhibitorio es el producido por el mismo (Cuadro 5, Gráfica 3).

VIII. DISCUSIÓN

En los últimos años, la sociedad ha priorizado los aspectos ambientales, conduciendo a investigaciones y a descubrimientos de nuevas alternativas para el control de plagas, por lo consiguiente las plantas se han considerado como un campo apropiado para la búsqueda de nuevas moléculas o/y compuestos con menos impacto ambiental, y con un alto potencial para el control de plagas agrícolas (Mareggiani, 2001; Alcalá de Mercano *et al.*, 2005)

Los extractos etanólicos revelaron la presencia de alcaloides, fenoles, glucósidos, saponinas, taninos de tipos condensado y terpenos, similar a lo reportado por Bendezú-Ramos y García (2019) y Valdivia *et al.* (2018), sin embargo Verastegui (2000), solo identificó saponinas, esteroides y lactonas sesquiterpénicas, el grupo de esteroides no se determinaron en esta investigación. Iannacone *et al.* (2013), en el tamizaje químico realizado al género *Agave*, determinó grupos como: glucósidos cardíacos, esteroides, taninos, flavonoides y saponinas, Cervantes (2016), menciona que las saponinas es un metabolito secundario que se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal, siendo la familia Agavaceae donde se encuentra en mayor abundancia. Verastegui (2000) y Barrón-Hernández (2016), sugieren que la saponina es la responsable de la actividad antimicrobiana y antifúngica dentro de las especies de *Agave*.

Los extracto etanólicos, obtenidos por maceración de *A. americana* L., y aplicado para el control de *C. gloeosporioides* obtuvo un efecto antifúngico considerable frente al patógeno aislado del mango y de la papaya donde no existen diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo químico, utilizando el extracto etanólico una concentración al 30%, se logró una inhibición relativa del 100%; de acuerdo a los trabajos de Lozano-Muñiz (2000); Gutiérrez (2015) y González-Álvarez *et al.* (2015), los extractos etanólicos de Agaves tienen una mayor eficacia de inhibición sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos.

El extracto acuoso obtenido por infusión presentó actividad antifúngica considerable sobre el patógeno asilado del mango y la papaya, no hubo diferencia

significativa con respecto al testigo químico, el extracto acuoso se utilizó a una concentración al 40%, la inhibición relativa fue del 100% sobre *C. gloeosporioides*, sin embargo en trabajos de González-Álvarez *et al.* (2015) y Lozano (2000), reportan que los extractos acuosos de Agaves tienen una baja actividad antifúngica que va del 3% hasta el 28%, quizás este efecto se deba a la presencia de las saponinas ya que existen investigaciones como el de Iannacone *et al.*, (2013) quienes reportan que los extractos acuosos en el género *Agave* presentan saponinas esteroidales las cuales pertenecen al grupo de las hecogeninas mismas que son muy abundantes en las hojas maduras de *Agave* y que se reportan con actividad biológica.

La extracción se realizó de tres distintas maneras, maceración utilizando etanol al 96% como solvente, el método de microonda empleando alcohol al 70%+agua estéril destilada (hidroalcohólico), y como se realiza de manera tradicional, infusión con agua estéril destilada, de acuerdo a Hayouni *et al.* (2007), la importancia de la selección del solvente y el método de extracción radica en afecta de una manera significativa el rendimiento y la obtención de los compuestos. En cuanto a la extracción por microonda de acuerdo a Herrera-Quiñonez y Rodríguez-Castillo (2016), mencionan que la rapidez en el calentamiento es la principal ventaja frente a los métodos tradicionalmente empleados, permitiendo así el ahorro significativo de tiempo, y la disminución de los volúmenes de disolventes.

Lo anterior demuestra que *A. americana* L. presenta actividad antifúngica sobre *C. gloeosporioides* la cual se puede utilizar como una alternativa para el manejo y el control de la antracnosis en el mango y la papaya.

IX. CONCLUSIÓN

- ✚ La evaluación fitoquímica reveló la presencia de alcaloides, fenoles, glucósidos, saponinas, taninos de tipo condensados, terpenos y lactonas sesquiterpénicas en los extractos de hojas de *Agave americana* L. obtenidos por diferentes métodos de extracción.
- ✚ Las saponinas y alcaloides fueron los grupos de metabolitos secundarios en común que se encontraron en los extractos etanólico y acuosos, quizás estos sean los responsables de la actividad antifúngica de los extractos de *Agave americana* L.
- ✚ Los extractos etanólicos y acuoso de *A. americana* L. presentaron la mayor actividad inhibitoria sobre el hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* tanto en el aislado del mango como el de la papaya.
- ✚ Los extractos etanólicos y acuosos no presentan diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo químico (fungicida) sobre *C. gloeosporioides* aislado del mango, sin embargo, el extracto hidroalcohólico presentó diferencia significativa sobre *C. gloeosporioides* aislado de la papaya.

X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES

- ✚ Realizar otros métodos para la extracción y emplear solventes de polaridades distintas que permitan conocer la diversidad de moléculas o metabolitos secundarios de los extractos de *Agave americana* L.
- ✚ Evaluar otras estructuras vegetales de *Agave americana* L. para determinar su potencial fúngico.
- ✚ Evaluar la actividad antifúngica en diversas etapas fenológicas de la planta.
- ✚ Se sugiere determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para obtener resultados precisos sobre el efecto en el patógeno.
- ✚ Los estudios sobre los extractos vegetales tienen importantes implicaciones en el sector agrícola, por lo que se recomienda realizar investigaciones sobre el tema, ya que esto permitirá obtener compuestos útiles en la agricultura, logrando obtener un manejo sustentable de los cultivos.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alba, M., González, M., Ramírez, N. y Castillo, M., 2003. Determinantes de la distribución de *Pinus* spp. en la Altiplanicie Central de Chiapas, México." *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 73: 7-15.
- Alcalá de Marcano, D., Vargas, N. y Pire, A. 2005. Efectos de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *In vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 22(4): 315-324.
- Alcázar-Valle, E. 2016 Caracterización de saponinas de *Agave durangensis* y *salmiana*, y su efecto en la pared y membrana celular de *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae*. Doctorado. Posgrado Interinstitucional en Ciencias y Tecnología opción terminal: Biotecnología productiva.
- Anaya-Lang, A. y Espinosa-García, F. 2006. La química que entreteteje a los seres vivos. *Ciencias*. 83: 4-13
- Ávalos-García. A. y Pérez-Urria, C. E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*. 2 (3):119-145.
- Barrón-Hernández, R. 2016. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antifúngica de saponinas de la pulpa de *Agave lechuguilla* Torrey. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Zapopan Jalisco.
- Bendezú-Ramos, A. y García, S. Y. 2019. Evaluación del efecto bioinsecticida *in vitro* de los extractos etanólicos de *Agave murpheyi* f. *variegata* "Agave" y *Azorella diapensioides* A. Gray "yareta" frente a *Planococcus citri* "chanchito blanco"; ICA, Octubre 2017- marzo 2018. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de ICA. ICA. Perú.
- Carrillo-Fasío, J., García-Estrada, R., Muy-Rangel, M., Sañudo-Barajas, A., Márquez-Zequera, I., Allende-Molar, R. De la Garza-Ruíz, Z., Patiño-Vera, M. y Galindo-Fentanes, E. 2005. Control biológico (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)

- Penz. Y Sacc.) y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de fitopatología*. 23(1): 24-32
- Carrión, A. y García, C. 2010. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Cuenca. Cuenca. Ecuador.
- Castillo-García, E. e I. Martínez-Solís. 2007. Manual de fitoterapia. Editorial Elsevier Masson. Barcelona, España. Pp. 29-41.
- Cervantes, A. 2016. Presencia de saponinas en *Agave* spp. De México. *BIOZ Revista de Divulgación*. 1(1).
- Chávez, R., Plaza, A., y de Ugaz, O. L. 1996. Antioxidantes de origen vegetal. *Revista de Química*, 10 (1).
- CONABIO. 2005. Comisión Nacional Para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. <https://www.gob.mx/Conabio> (acceso 25 de febrero 2021.)
- Cowan M. M. 1999. Productos vegetales como agentes antimicrobianos. *Revisiones clínicas de microbiología*, 12 (4): 564–582.
- Díaz-Puentes, L. 2009. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensa química de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*. 1(2) 32-55
- Davicino, R., Mattar, M. A., Casali, Y. A., Correa, S. G., Pettenati, E.M. y Micalizzi, B. 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*. 14 (2): 247-251.
- Domínguez, X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Limusa. México.
- De Vivar Romo, A. 2006. Química de la flora mexicana: investigaciones en el Instituto de química de la UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Domingo, D. y López-Brea, M. 2003. Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*. 16(4): 385-393.

- Escalona, T. P., Arias, M. P., Noguerras, C. J., y Palomino, Y. P. 2019. Estudio etnofarmacológico de algunas especies endémicas de agave utilizados en la medicina tradicional. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 6(2 Dicbre.), 57-66.
- Enriz, R. D., Rodríguez, A. M.; Jáuregui, E. A. 1998. Estudio de la relación estructura-actividad citoprotectora gástrica de lactonas sesquiterpénicas y compuestos estructuralmente relacionados. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 17 (1): 41-52.
- FAO. 1990. Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. (Versión enmendada). Roma
- Gañán, L., Álvarez, E. y Castaño-Zapata, J. 2015. Identificación genética de aislamientos de *Colletotrichum* spp. Causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 39(152): 339–347.
- García, D. E. 2004. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y forrajes*. 27(1): 1-12
- García-Herrera, E., Méndez-Gallegos, S. y Talavera-Magaña, D. 2010. El género *Agave* SPP. En México: principales usos de importancia socioeconómicas y agroecológicas. *Revista de salud Pública y Nutrición*. 5: 109-129.
- García-Rincón, D. 2005. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana de Guayabo agrio (*Psidium guineense* Sw.). Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. 94 pp.
- García-Mendoza, A. 2002. Distribution of agave (Agavaceae) in México. *Cactus and Succulent Journal*. 74(4): 177-188.
- García-Mendoza A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87: 14-23
- Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biológica colombiana*, 13 (3), 27-36.

- González-Álvarez, M., Moreno-Limón, S., Salcedo-Martínez, S. y Pérez-Rodríguez, E. 2015. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, *Salm Dyck*) sobre hongos postcosecha. *Phyton (Buenos Aires)*. 84(2): 427-434.
- Gutiérrez-Alonso, J. G., Gutiérrez-Alonso, O., Nieto-Ángel, D., T´wliz-Ortíz, D., Zavaleta-Mejía, E., Y Delgadillo-Sánchez, F. 2004. Manejo integrado de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc.) del mango (*Mangifera indica* L.) durante postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22(3): 395-402.
- Gutiérrez, J. E. 2015. Actividad antifúngica del extracto etanólico de hojas y raíces de *Agave americana* “cabuya” frente a *Moniliophthora roreri*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.
- Háhuad-Marroquin, L.A., Pérez-Liñan, A., Resendes-Pérez, D., Moreno, C., Lara-Vásquez, S., Lázaro-López, D. y Luna-Rodríguez, C. 2010. Determinación química y estudio terapéutico de *Agave tequilana* weber. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 5: 254-265.
- Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M. y Hamdi M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. 105: 1126-1134
- Herrera-Quiñones, X. y Rodríguez-Castillo, K. 2016. Evaluación del extracto de flavonoles y antocianinas contenido en el agraz (*Vaccinium meridionale* swartz) obtenido a nivel de laboratorio por medio de los métodos de extracción por solventes y extracción asistida por microondas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingenierías Programa de Ingeniería Química. Fundación Universidad de América. Bogotá.
- Iannacone, J., La Torre, M., Flores, L. A., Cepeda, C., Oroya, H. A. y Argota, G. 2013 Toxicity of the biopesticides *Agave americana*, *Furcrea andina* (Asparagaceae)

and *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) on invader snail *Melanoides tuberculata* (Thiaridae). *Neotropical Helminthology*. 7(2): 231-241.

Intra, B., Mungsuntisuk, I., Nihau, T., Igarashi, Y. y Panbangred, W. 2011 Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum* spp., the causative agent of anthracnose disease. *BMC Research Notes*. 4(1): 1-9

Instituto Nacional De Estadística Y Geográfica (INEGI). 2010. Dirección de estadísticas de Recursos Naturales y Medio Ambiente con base en: Dirección de Estadísticas Económicas. Vehículos de motor registrados en circulación (con base en cifras de los gobiernos de los estados), Censo de Población y Vivienda 1980-200 población de México para los años 2001 a 2008.

Instituto Nacional De Estadística Y Geográfica (INEGI) 2005. Vegetación, serie III.

Instituto Nacional De Estadística Y Geográfica (INEGI B) 2010 Red hidrográfica escala 1:50,000 versión 2.0

Karam, M. Á., Ramírez, G., Montes, L.P. y Galván, J. 2004 Plaguicidas y salud de la población. CIENCIA ergo-sum, *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*. 1(3): 246–254.

Kuklinki, C. 2003. Farmacognosia. Estudios de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega. Barcelona, España. Pp. 515.

Lam-Gutiérrez, A., Ayora-Talavera, T., Garrido-Ramírez, E., Gutiérrez-Miceli, F., Montes-Molina, J., Lagunas-Rivera, S. y Ruíz-Valdiviezo, M., 2019. Phytochemical profile of methanolic extracts from Chilca (*Baccharis glutinosa*) roots and its activity against *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium moniliforme*. *Journal of Environmental Biology*. 40(3): 302-308.

López-Sánchez, C. 1993. Lecturas chiapanecas VI. Gobierno del Estado de Chiapas/Miguel Ángel Porrúa, México.

- Loyola-Varga, V., Sánchez-Iturbe, P., Canto-Canche, B., Gutiérrez-Pacheco, L., Galaz-Ávalos, M. y Moreno-Valenzuela, O. 2004. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. *Revista de la Sociedad Química de México*. 48(1): 67-94.
- Lozano-Muñiz, S. 2000. Influencia de extractos de Agavaceas sobre *Aspergillus flavus* LINK ex FRIES y *A. parasiticus* SPEARE. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garzas. Nuevo León.
- Mareggiani, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 60: 22-30.
- Martínez-Valenzuela, C. y Gómez-Arroyo, S. 2007. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 23(4): 185–200.
- Mesa, A., Marin, P.A., Ocampo., O., Calle, J. y Monsalve, Z. 2019. Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. Ediciones INTA. 45(1): 23-30.
- Miranda-Martínez, M. 2002. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. Pp 68 .
- Muñoz-Jáuregui, A. M. y F. Ramos-Escudero. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Revista Horizonte Médico*. 7 (1): 23-31
- Murray, R., Candan, A. y Vázquez, D. 2019. Manual de poscosecha de frutas: Manejo integrado de patógenos. INTA. Buenos Aires.
- Navarrete, C., Gil, L., Durango, D. y García, C. 2010. Extracción y Caracterización del Aceite Esencial de Mandarina Obtenido de residuos Agroindustriales. *Dyna revista Medellín*, Colombia. 162: 85-92.
- Nuez, F. 1999. El cultivo del tomate. Mundi-Prensa. Madrid.

- Ocaña-López, M. 2013. Actividad antifúngica in vitro de extractos vegetales contra *Fusarium oxysporum* Snyder y Hans. Tesis de Licenciatura. División de Agronomía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Olivas-Aguirre, F. J., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G. A., López-Díaz, J. A., Álvarez-Parrilla, E., Rosa, L. A., y Ramos-Jimenez, A. 2015. Taninos hidrolizables: bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 55-66.
- Pacheco-Jiménez, E. 2012. Determinación del contenido de ácido ascórbico y la presencia de terpenos en un grupo de briófitas, propias de la zona amazónica norte del Ecuador, expuestas a la acción de una dosis de Glifosato. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional. Quito
- Páez-Redondo, A. 2003. Tecnologías sostenibles para el manejo de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc) en papaya (*Carica papaya* L.) y mango (*Mangifera indica* L.). Boletín 7. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional Tres. Valledupar, Colombia,
- Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. y Bravo, J.A. 2014 compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*. 31:68-81.
- Peña-Sánchez, R. y Páez-Mendieta, J. 2014. Fitopatología, en línea Virtual.uptc.edu.co.
- Pérez, L. 2018. Control biológico, una estrategia tan sostenible como rentable. *RIA*. 44 (2): 4-8.
- Pino-Rodríguez, S., Prieto-González, S., Pérez-Rodríguez, M. y Molina-Torres, J. 2004. Género Erythrina: fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta farmacéutica Bonaerense*, 23(2): 252-258.
- Plummer, D. 1981. Bioquímica práctica. 2ª ed. McGraw-Hill Latinoamericana. Bogotá, Colombia.

- Piñol, M., Palazón, J.; Cusidó, R. M. 2013. Introducción al metabolismo secundario En: Azcon-Bieto, J. y M. Talón. Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill-Interamericana. Barcelona, España. Pp. 323-348
- Reyes, R.T., Mesa, J.C.T., Cerquera, H.G., Negrette, R.G., Reyes, E., Moreno, A.B. y Méndez, A. 2013. Equipo técnico plan frutícola nacional de Colombia-PFN. pp. 88.
- Reynoso-Santos, R., García-Mendoza, A.J., López-Báez, W., López-Luna, A. Cadena-Iñiguez, P., Pérez-Farrera, M.A. y Domínguez-Gutiérrez, M. 2012. Identificación taxonómica de agaves (agaves spp.): utilizados para la elaboración del licor comiteco en Chiapas, México. *Agroproductividad*. 5(4): 9-18.
- Rivero López, M., Alvarez González, M., López Acosta, T. y González Cáceres, J. 1997. Actividad antifúngica in vitro del *Pinus caribaea* (pino macho). *Revista Cubana de plantas medicinales*, 2(1), 25-29.
- Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. 2019. La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma. FAO.
- Rojas-Elizalde J. 2017 Identificación y Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de los compuestos extraídos de seis morfotipos de *Agave durangensis*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Victoria de Durango, Durango.
- Saborío, D., Sáenz, V., Arauz, L.F. y Bertsch, F. 2000 Efecto del calcio en aplicaciones pre cosecha y pos cosecha sobre la severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y la calidad de frutos de papaya (*Carica papaya*). *Agronomía Costarricense*. 24 (2): 77–88
- Salazar-Pineda, D. 2015. Actividad antibacteriana y antiinflamatoria de extractos y fracciones de *Agave cupreata*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero. Chilpancingo, Guerrero.

- Sánchez-García 2002 Inhibición del crecimiento y la producción de toxinas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* por extractos de plantas del genero Agave. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garzas. Nuevo León
- Sarker, S. y Nahar, L. 2012. Natural Products Isolation. Tercera edición. Capítulo Extraction and isolation of saponina. Human Press.
- Silva, K.S., Rebouças, T.N.H., Lemos, O.L., Bomfim, M.P., Bomfim, A.A., Esquivel, G.L., Barreto, A.P.P., São José, A.R., Dias, N.O. y Tavares, G.M. 2006 Patogenicidades causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) en diferentes especies fructíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 28(1): 131–133.
- Tereshina, V. Ideda, T., Imada, K., Sasaki, K., El-Sayed, M. Shigyo, M., tanaka, S. y Shin-ichio, J. 2013. Identification and Biological Activity of Antifungal Saponins from Sallot (*Allium cepa* L. Agregatum Group). *American Chemical society*. 61: 7440-7445.
- Toledo, V. M. 1994. La diversidad biológica de México. Nuevos retos para la investigación de los noventa. *Ciencias*. 34: 43-57.
- Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. y Vijayakumar, R. 2018. Un capítulo introductorio: metabolitos secundarios. *Segundo metab: fuentes Appi*. 1-21.
- Valdivia, A. L., Fontanills, Y.R., Álvarez, L.M.H., Rbelo, J.J., Hernández, Y.P. y Tundidor, Y.P. 2018. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de los extractos de las hojas de *Agave fourcroydes* Lem (henequén). *Revista Cubana de Plantas*. 23(2).
- Vélez-Terranova, M., Campos-Gaona, R y Sánchez-Guerrero, H. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17(3): 489-499
- Verastegui, M. 2000 Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos de Agaves y su acción sobre el Tigmotropismo y Dimorfismo de *Candida albicans*.

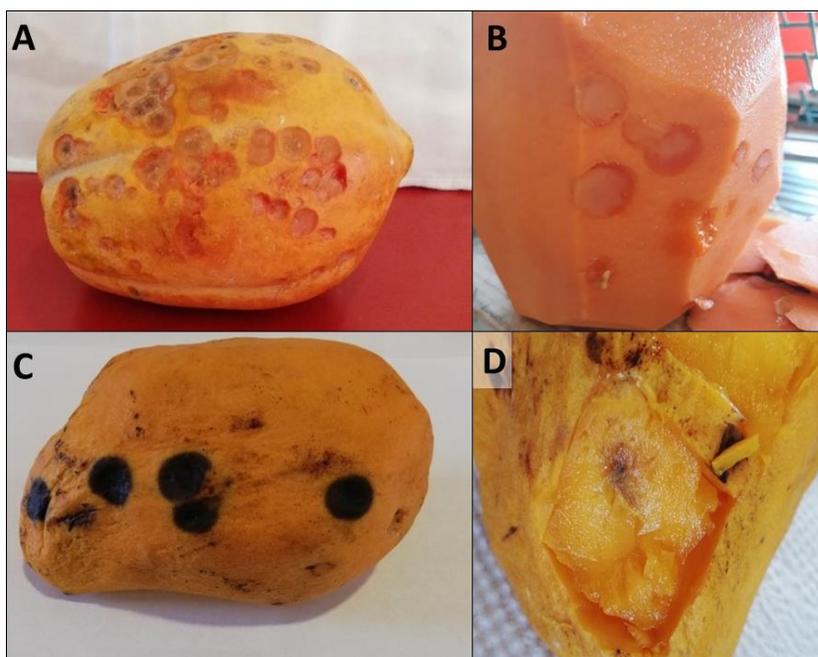
Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N.L.

Villavicencio-Nieto, M.A., Pérez-Escandón, B. E., y Gordillo-Martínez, A. J., 2010. Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el Estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*. 30: 193-238.

Villegas, A. y Mora, A. 2011. Avances de la fruticultura en México. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 33: 179-186

XII. ANEXOS

Anexo 1. Antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* en *Carica papaya* L. (papaya) y *Mangifera indica* L (mango)



A y B: por fuera y dentro del fruto de la papaya, C y D: por fuera y dentro del fruto del mango.

Anexo 2. Grupos de metabolitos secundarios presentes en extracto de *A. americana*

Grupos	Solventes		
	Etanol	Hidroalcohólicos	Agua
Alcaloides	+++	++	++
Fenoles	++	-	-
Flavonoides	-	-	-
Glucósidos	+	-	-
Saponinas	+++	-	++
Taninos	+++	-	-
Terpenos	+++	-	-
Lactona sesquiterpénica	-	+	+

Intensidad de reacción: -:nula; +:baja; ++:media; +++: alta.

Anexo 3. Resultados de la prueba con el reactivo de Dragendorff para determinar alcaloides.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 4. Resultados de la prueba de cloruro férrico para determinar fenoles.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 5. Resultados de la prueba de Shinoda para identificar flavonoides.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 6. Resultados de la prueba con el reactivo de Molish para determinar glucósidos.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 7. Resultados de la prueba de espuma para identificar saponinas.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 8. Resultados de la prueba para taninos hidrolizables y condensados.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 9. Resultados de la prueba de Liebermann-Buchard para identificar terpenos-esteroides.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					

Anexo 10. Resultados de la prueba de Baljet para identificar Lactonas sesquiterpénicas.

Etanólico		Hidroalcohólico		Acuoso	
Testigo	Prueba	Testigo	Prueba	Testigo	Prueba
					