



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**Facultad de Químico
Farmacobiología**

**Extracción de aceites esenciales de madera de *Caesalpinia*
spp**

TESIS

**Que para obtener el grado de:
Químico Farmacobiólogo**

Presenta:

C. Wuilver Eder García Reynoso

Asesores:

**D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco
M.C. César Bonifacio Ramírez López**

Morelia, Michoacán, Noviembre 2011



RESUMEN

Palabras clave: Aceites esenciales, *Caesalpinia*, hidrodestilación, fitopatógeno.

El género *Caesalpinia* agrupa especies arbóreas con escasos estudios fitoquímicos, especialmente *C. coriaria* y *C. platyloba*. Son árboles considerados por los habitantes de Michoacán como multipropósito o multiuso. Son dos especies arbóreas utilizadas en medicina tradicional, son una fuente importante de taninos y ácido gálico y como cercos vivos por lo cual su fitoquímica resulta interesante. Los aceites esenciales se obtienen mediante la destilación por arrastre de vapor o hidrodestilación que es una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otros no volátiles que se encuentran en la mezcla. El objetivo del presente trabajo fue obtener los aceites esenciales de madera (corteza, albura y duramen) de *C. coriaria* y *C. platyloba* e identificar la distribución de sus componentes químicos así como determinar el efecto antifúngico de los aceites esenciales y de los extractos orgánicos. **Resultados.** En los aceites esenciales de *C. coriaria* se identificaron 30 compuestos químicos dentro de los cuales destacan por su abundancia los siguientes: escualeno (corteza), *cis, cis, cis*-7,10,13-hexadecatrienal (albura) y (*E*)-6,10-dimetil-5,9-undecandien 2-ona (duramen). En *C. platyloba* se obtuvieron 40 compuestos químicos siendo los más abundantes: 2,4-bis-(1,1-dimetiletil)-fenol (corteza), 1,2,4-trimetilbenceno (albura) y Kaur-16-eno (duramen), los cuales presentaron un efecto estimulante en el hongo fitopatógeno *Colletotrichum lindemuthianum*. Los extractos orgánicos fueron aplicados en hongos fitopatógenos causantes de la pudrición peduncular de aguacate, siendo el extracto hexánico de duramen de *C. coriaria* el más efectivo inhibiendo tres de los siete hongos evaluados.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1. Aceites esenciales.....	1
I.1.1. Composición química.....	1
I.1.2. Propiedades físicas.....	2
I.1.3. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.....	2
I.1.4. Toxicidad de los aceites esenciales.....	3
I.1.5. Terpenoides.....	3
I.2. Familia Leguminosae.....	5
I.2.1. Descripción del género <i>Caesalpinia</i> spp.....	5
I.2.2. Descripción y clasificación taxonómica de <i>Caesalpinia coriaria</i>.....	5
I.2.3. Descripción y clasificación taxonómica de <i>Caesalpinia platyloba</i>....	6
I.2.4. Usos del género <i>Caesalpinia</i> spp.....	7
I.2.4.1. Cerco vivo y ornamental.....	7
I.2.4.2. Maderable.....	8
I.2.4.3. Forraje.....	8
I.2.4.4. Medicinal.....	8
I.3. Fitoquímica del género <i>Caesalpinia</i> spp.....	8
II. JUSTIFICACIÓN.....	9
III. HIPÓTESIS.....	11
IV. OBJETIVO GENERAL.....	11
V. OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
VI. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	12
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
VII.1. Hongos utilizados.....	13
VII.2. Material vegetal.....	13
VII.3. Obtención de los aceites esenciales de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>.....	13
VII.4. Obtención de los extractos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>.....	15
VII.5. Ensayos biológicos.....	15
VII.5.1. Preparación del medio mínimo líquido.....	15
VII.5.2. Preparación de los aceites esenciales y las sustancias control..	15

	Página
VII.5.3. Método para la determinación de la inhibición de esporas.....	16
VII.5.4. Preparación de los medios de cultivo.....	17
VII.5.5. Preparación de los extractos y las sustancias control.....	17
VII.5.6. Método de difusión en agar para hongos filamentosos.....	17
VII.6. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	18
VII.6.1. Condiciones del cromatógrafo de gases.....	18
VII.6.2. Condiciones del espectrómetro de gases.....	18
VII.6.3. Identificación de los componentes de los aceites esenciales..	18
VII.7. Análisis estadístico.....	18
VII.8. Análisis de resultados.....	19
VII.8.1. Determinación del peso fresco y seco de <i>C. lindemuthianum</i> ..	19
VII.8.2. Determinación del índice de crecimiento.....	19
VIII. RESULTADOS.....	20
VIII.1. Rendimiento de aceites esenciales y extractos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	20
VIII.2. Análisis de los componentes presentes en la madera de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	20
VIII.3. Determinación del efecto de los aceites esenciales sobre la germinación de esporas de <i>C. lindemuthianum</i>	20
VIII.4. Actividad antifúngica de los extractos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i> Sobre el crecimiento de hongos filamentosos.....	26
VIII.4.1. Extractos hexánicos totales de <i>C. coriaria</i>	26
VIII.4.2. Extractos cloruro metilénicos de <i>C. coriaria</i>	26
VIII.4.3. Extractos metanólicos de <i>C. coriaria</i>	26
VIII.4.4. Extracto hexánico total de albura de <i>C. platyloba</i>	31
VIII.4.5. Extracto cloruro metilénico de albura de <i>C. platyloba</i>	31
VIII.4.6. Extractos metanólicos de <i>C. platyloba</i>	31
IX. DISCUSIÓN.....	34
X. CONCLUSIÓN.....	36
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	37
XII. DIRECCIONES URL.....	40

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Clasificación de terpenos.....	4
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	7
Cuadro 3. Usos de las especies arbóreas del género <i>Caesalpinia</i> spp.....	9
Cuadro 4. Composición del medio mínimo.....	16
Cuadro 5. Rendimiento porcentual y propiedades organolépticas de los aceites esenciales y extractos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	21
Cuadro 6. Abundancia (%) de los componentes identificados en los aceites esenciales de madera de <i>C. coriaria</i>	22
Cuadro 7. Abundancia (%) de los componentes identificados en los aceites esenciales de madera de <i>C. platyloba</i>	23
Cuadro 8. Componentes caracterizados por grupo funcional presentes en los aceites esenciales de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	24
Cuadro 9. Abundancia (%) de los compuestos identificados en el extracto hexánico total y cloruro metilénico de <i>C. coriaria</i>	25
Cuadro 10. Actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de <i>C. coriaria</i>	26
Cuadro 11. Actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de <i>C. coriaria</i>	27
Cuadro 12. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de <i>C. coriaria</i>	27
Cuadro 13. Actividad antifúngica del extracto hexánico total de albura de <i>C. platyloba</i> .	31
Cuadro 14. Actividad antifúngica del extracto cloruro metilénico de albura de <i>C. platyloba</i>	32
Cuadro 15. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de <i>C. platyloba</i>	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura del isopreno y ordenación “cabeza-cola”.....	4
Figura 2. Estructuras de monoterpenos.....	4
Figura 3. Distribución del género <i>Caesalpinia</i> spp en el Estado de Michoacán.....	6
Figura 4. Fotografías representativas de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	7
Figura 5. Árboles utilizados.....	14
Figura 6. Esquema del método de inoculación de esporas para determinar el efecto inhibitorio de los aceites esenciales.....	16
Figura 7. Esquema del método de difusión en agar para determinar el efecto inhibitorio del crecimiento de hongos filamentosos.....	17
Figura 8. Efecto de los aceites esenciales de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i> en la germinación de esporas de <i>C. lindemuthianum</i>	20
Figura 9. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	28
Figura 10. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	28
Figura 11. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	29
Figura 12. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de <i>C. coriaria</i> y <i>C. platyloba</i>	29
Figura 13. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>C. coriaria</i>	30
Figura 14. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>C. coriaria</i>	30
Figura 15. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>C. platyloba</i>	33
Figura 16. Imágenes ilustrativas de la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>C. platyloba</i>	33

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son una mezcla heterogénea de compuestos químicos orgánicos, provenientes principalmente de la familia química de los terpenoides. Tienen la propiedad en común de generar diversos aromas perceptibles (Muñoz, 2002; Peter, 2004). Es frecuente que los aceites esenciales contengan más de 200 componentes en pequeñas cantidades, pero todos son importantes para determinar el olor y el sabor del aceite, por lo que la falta de un elemento puede cambiar el aroma (Rogers, 1998).

La composición de los aceites esenciales y de los extractos obtenidos de las plantas está determinada en primera instancia por la especie y la variedad, pero también por las condiciones agronómicas, el tiempo de cosecha y el tipo de procesamiento. Las condiciones ambientales y ecológicas de una región en particular también son factores importantes que determinan el porcentaje de los diferentes constituyentes en un aceite en particular (Guillén *et al.*, 1996).

Su función en las plantas no está totalmente establecida, se ha observado la función de algunos de ellos en cuanto a interacción vegetal (agentes alelopáticos, especialmente inhibidores de la germinación), protección contra depredadores (insectos, hongos). Sus olores atraen insectos que ayudan a la polinización y por lo tanto los aceites esenciales pueden ayudar a la selección natural. Los bálsamos y resinas que contienen aceites esenciales actúan como sello protectores contra enfermedades o parásitos y previenen la pérdida de savia cuando los troncos están dañados.

I.1.1. Composición química

Los aceites esenciales principalmente son compuestos volátiles y están formados por una amplia variedad de compuestos orgánicos con diferentes grupos funcionales y estructura molecular, generalmente son componentes de bajo peso molecular como compuestos alifáticos simples, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos (Mesa *et al.*, 2004; Schelz *et al.*, 2006). Los constituyentes orgánicos de los aceites esenciales incluyen terpenos y sus derivados oxigenados, compuestos aromáticos con estructura bencenoide, hidrocarburos alifáticos y sus derivados oxigenados y compuestos que contienen sulfuros y nitrógeno.

Aunque los terpenos hidrocarbonados son el principal componente de muchos aceites esenciales, su contribución al olor es pequeña comparada con sus derivados oxigenados. Los derivados oxigenados incluyen alcoholes, aldehídos, cetonas, lactonas, ésteres. Son los que principalmente contribuyen al olor y sabor de los aceites.

I.1.2. Propiedades físicas

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente. Sin embargo, algunos son semisólidos y varios sólidos (Rogers, 1998), inflamables (Cadby *et al.*, 2002), volátiles, lo que les diferencia de los aceites fijos, raramente son coloreados. Aunque pueden poseer un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes algunos (Muñoz, 2002; Peter, 2004). En general, su densidad es inferior a la del agua. Poseen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada. Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales, casi inmiscibles en disolventes polares (agua, amoníaco). Presentan degradación química en presencia de la luz solar, aire, calor, ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada, por lo que necesitan ser almacenados bajo condiciones cuidadosamente controladas (Wright, 1999).

I.1.3. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Centrando un interés particular en el potencial de aplicación de los aceites esenciales y los extractos de las plantas, el posible uso de aditivos naturales surge como una tendencia a reemplazar los agentes antimicrobianos sintéticos. Los fitocompuestos representan una ventaja sobre los plaguicidas sintéticos, por la magnitud de su complejidad, diversidad y novedosos químicos, así como sus reacciones (Sharma, 1986). Además de ser biodegradables, no contaminantes y no poseen toxicidad residual o propiedades fitotóxicas (Badei *et al.*, 1996; Bishop y Thornton, 1997; Tewari, 1990).

El número de antifúngicos disponibles para tratar las micosis es escaso. Entre los más usados se encuentran los de tipo polieno como las nistatinas, los de tipo azol y tiazol como el fluconazol y algunos de menor uso como las sordarinas (Odds *et al.*, 2003). El descubrimiento de nuevos antifúngicos se basa en la exploración de diferentes fuentes de compuestos bioactivos, entre las que se encuentran las especies de plantas conocidas actualmente entre 250,000 y 500,000 (Verpoorte, 1998; Cowann, 1999). Las plantas sintetizan metabolitos secundarios como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que utilizan para defenderse de las infecciones por agentes fitopatógenos entre ellos los hongos (Farnsworth *et al.*, 1985; Osbourn, 1999). Los aceites esenciales son conocidos por ejercer actividad antimicrobiana (Sacchetti *et al.*, 2005; Schelz *et al.*, 2006; Inouye y Uchida, 2006; Barreto *et al.*, 2006). Aunque el mecanismo por el cual actúan no está totalmente entendido, puede involucrarse en este la destrucción de la membrana microbiana por los constituyentes lipofílicos que poseen (Schelz *et al.*, 2006; Keeler y Tu, 1991). Estudios recientes reportan otros efectos como cambios en la morfología del hongo que incluyen daños sobre estructuras como conidias, macroconidias e hifas; así como, la disminución en la producción de micotoxinas (Park *et al.*, 2009).

Maruzzella y Balter (1959) encontraron que 100 de los aceites esenciales, de las 119 especies vegetales estudiadas, presentaban efecto antagonista contra al menos 1 de los 12 hongos fitopatógenos estudiados y que 50 de estos compuestos mostraban un amplio espectro de actividad contra los mohos

ensayados. También se ha observado que la actividad de los aceites esenciales no solo depende de sus componentes sino también de la estructura química de los mismos (Farag *et al.*, 1989).

I.1.4. Toxicidad de los aceites esenciales

Por regla general, los aceites esenciales por vía oral poseen una toxicidad débil: la mayoría de los que se utilizan frecuentemente tienen un DL_{50} en un intervalo de 2 a 5 g/Kg (anís, eucalipto, clavo, etc.) o lo que es más frecuente, superior a 5 g/Kg (manzanilla, lavanda, mejorana, vetiver, etc.). Otros poseen una DL_{50} entre 1 y 2 g/Kg: albahaca, estragón, hisopo (1.5 ml/Kg), orégano, ajedrea (1.37 g/Kg), y también *Melaleuca*, sazafrán (1.9 g/Kg) o *witergreen* (0.9-1.25 g/Kg). Los más tóxicos son los aceites esenciales de boldo (0.13 g/Kg; presentando convulsiones a partir de 0.07 g/Kg), de quenopodio (0.25 g/Kg), de tuja (0.83 g/Kg), de *pennyroyal* (0.4 g/Kg), así como la esencia de mostaza (0.34 g/Kg). Las mismas observaciones se pueden hacer en el caso de los constituyentes químicos de los aceites esenciales con una $DL_{50} < 2$ g/Kg: tujonas (0.2 g/Kg), pulegona (0.47 g/Kg), carvacrol (0.81 g/Kg), carvona (1.64 g/Kg).

I.1.5. Terpenoides

En los aceites esenciales se encontraran únicamente los terpenos más volátiles, es decir, aquellos cuya masa molecular no es demasiado elevada: mono- y sesquiterpenos. En el **Cuadro 1** se muestra la clasificación de los terpenos.

Elaborados a partir de los mismos precursores, terpenoides y esteroides constituyen sin duda, el más amplio conjunto conocido de metabolitos secundarios vegetales. La inmensa mayoría de los terpenos son específicos de las plantas, pero se pueden encontrar en los animales: feromonas y hormonas juveniles sesquiterpénicas de los insectos, diterpenos de organismos marinos. Las rutas sintéticas de los metabolitos secundarios en las plantas es la ruta del mevalonato y desoxixilulosa fosfato, está última involucra también síntesis de esteroides. Sin embargo, se ha propuesto que algunos terpenoides no se originan por esta ruta, sino por una ruta alternativa que involucra piruvato y gliceraldehído-3-fosfato (Sponsel, 1995; Adam *et al.*, 1998).

La característica estructural que distingue a los terpenos de otros productos naturales es la unidad de isopreno que es una unidad pentacarbonada ramificada derivada del 2-metilbutadieno. Los terpenos pueden ser alifáticos, acíclicos o bi- y tri- cíclicos con varios grados de insaturación con dobles o triples enlaces. Cada grupo de terpenos es el resultado de la condensación cabeza-cola de un número variable de unidades isoprenicas (Regla del isopreno) (**Figura 1**).

Los monoterpenos son bien conocidos ya que son terpenos de 10 carbonos, además son componentes de las esencias volátiles de las flores y como parte importante de los aceites esenciales de hierbas y especias. A veces constituye más del 90% del aceite esencial (*Citrus*, trementinas). Los monoterpenos son subdivididos dentro de tres grupos: acíclicos, monocíclicos y bicíclicos (**Figura 2**) (Ikan, 1991).

Cuadro 3. Clasificación de los terpenos.

Clase	Unidades de isopreno	Número de carbonos	Ejemplos
Hemiterpenos	1	5-C	
Monoterpenos	2	10-C	Mirceno, (-)-mentol
Sesquiterpenos	3	15-C	Farnesol, α -salineno
Diterpenos	4	20-C	Cembreno
Sesterpenos	5	25-C	
Triterpenos	6	30-C	Escualeno
Tetraterpenos	8	40-C	Carotenos
Politerpenos	Más de 10 unidades de isopreno		

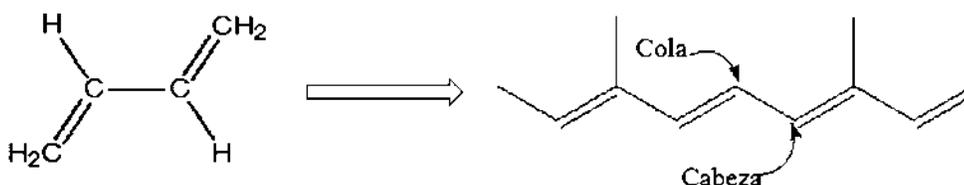


Figura 1. Estructura del isopreno y ordenación “cabeza-cola”.

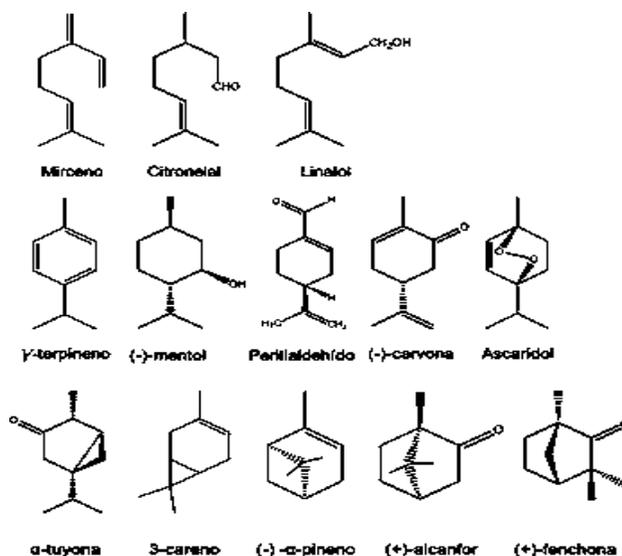


Figura 2. Estructuras de monoterpenos.

I.2. Familia Leguminosae

La familia Fabaceae o Leguminosae se caracteriza por estar ampliamente representada en diversas regiones del planeta con cerca de 500 a 650 géneros y alrededor de 17,000-20,000 especies, agrupa un gran número de plantas útiles, especialmente en lo que se refiere a la alimentación y maderable (Rzedowski y Rzedowski, 2005; Choi *et al.*, 2006). La familia está constituida por tres subfamilias: Fabaceae, Mimosaceae y Caesalpinaseae (Villaseñor y Espinoza, 2004).

Michoacán cuenta con una vasta riqueza vegetal con la cual ocupa el cuarto lugar en riqueza florística, con 4,672 especies nativas de las cuales las Fabaceae ocupan el segundo lugar con 1,800 (Villaseñor y Espinoza, 2004). La subfamilia *Caesalpinioidea* está representada con 39 especies y 9 géneros (**Figura 3**) repartidos todos ellos en la región de Tierra Caliente y en la costa (Salvador, 2010).

I.2.1. Descripción del género *Caesalpinia* spp

El género *Caesalpinia* está integrado por árboles, arbustos o plantas trepadoras, inermes o armadas con espinas; estípulas grandes y conspicuas o diminutas, hojas bipinnadas, folíolos pequeños y numerosos o más grandes y en menor cantidad; flores grandes y vistosas, dispuestas en racimos paniculados, axilares o terminales; cáliz con el tubo corto y 5 lóbulos imbricados; corola amarilla o roja, con 5 pétalos orbiculares u oblongos; 10 estambres libres; ovario sésil, cáliz libre, óvulos escasos; legumbre oblonga, lanceolada o falcada, comprimida, no alada, a menudo coriácea o engrosada e indehiscente; semillas dispuestas transversalmente, ovadas a orbiculares o globosas, de testa coriácea. El género consta de alrededor de 280 especies distribuidas en las regiones cálidas de ambos hemisferios (Rzedowski y Rzedowski, 2005). Sin embargo, otros autores mencionan que el género *Caesalpinia* consta de aproximadamente 150 especies, de las cuales el 70-75 % son Neotropicales, México es considerado uno de los centros de diversificación del género con 45 especies en todo el país y de las cuales 35 son endémicas (Sotuyo y Lewis, 2007). El Estado de Michoacán cuenta con nueve especies pertenecientes al género *Caesalpinia* las cuales son: *C. cacalaco*, *C. coriaria*, *C. gaumeri*, *C. hintonii*, *C. mexicana*, *C. multiflora*, *C. oyamae*, *C. platyloba* y *C. pulcherrima*.

I.2.2. Descripción y clasificación taxonómica de *Caesalpinia coriaria*

Es un árbol perennifolio de 5-7 m de altura, copa grande y extendida, tronco con múltiples bifurcaciones en ocasiones desde la base, corteza externa marrón-chocolate, áspera y muy fisurada; hojas compuestas bipinnadas de 10-15 cm de longitud; flores dispuestas en racimos de una coloración verde pálido o amarillentas; fruto de forma irregular, encorvado o enrollado de 3-6 cm de longitud, carnoso cuando es joven y duro cuando seco; semillas ovadas, planas de un café lustroso (**Figura 4**). *C. coriaria* se puede encontrar en bosque de coníferas, bosque tropical caducifolio, bosque tropical subcaducifolio, vegetación acuática y subacuática. *C. coriaria* es oriunda de los Estados de Michoacán, Jalisco, Nayarit, Quintana Roo, Sinaloa y Yucatán

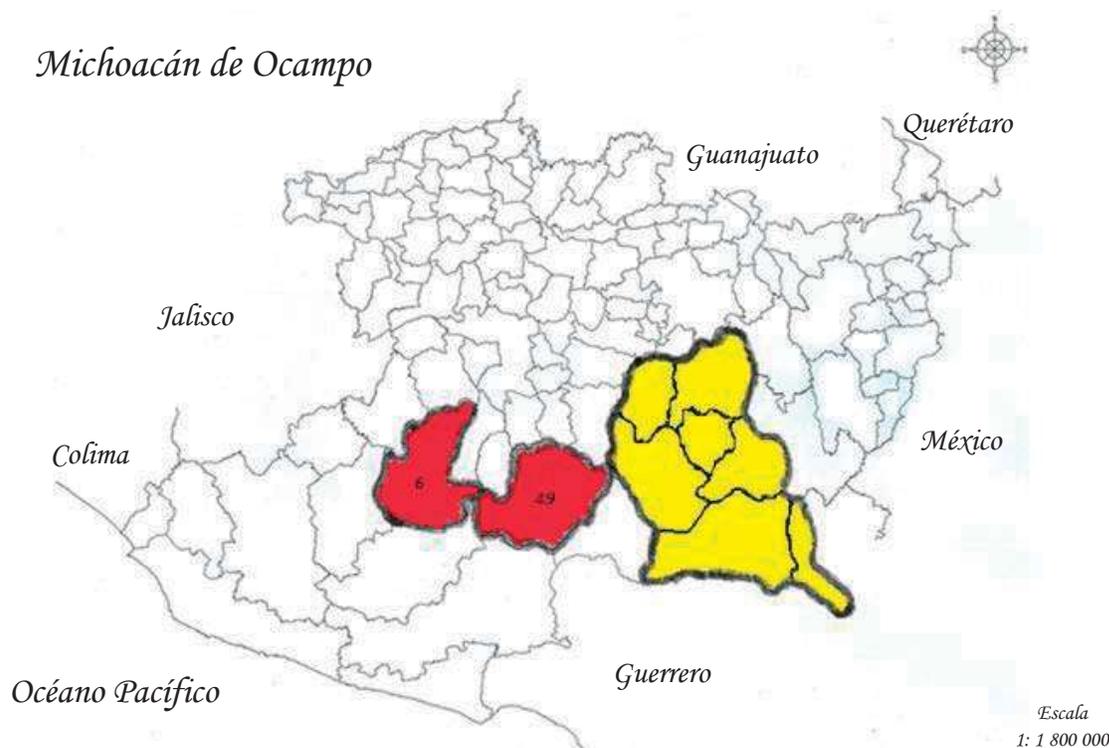


Figura 3. Distribución del género *Caesalpinia* spp. El color amarillo nos indica la región de Tierra Caliente, en tanto el rojo indica los lugares de colecta. Apatzingán (6) y La Huacana (49). Modificado de: <http://www.mapasmexico.net/mapa-michoacan.html> (5).

La sinonimia para esta especie es: *Caesalpinia thomaea*, Spreng; *Libidibia coriaria*, (Jacq) Schldt; *Poinciana coriaria*, (Jacq) Willd. En lo que se refiere a los nombres comunes se le conoce como: cascote, divi divi, nacazcul, agallo, huatapana y tara del Caribe.

1.2.3. Descripción y clasificación taxonómica de *Caesalpinia platyloba*

Es un árbol de exuberante follaje de 6-7.5 m de altura, tronco inerme de corteza blanquecina y poco fisurada; hojas de 20 cm de longitud; flores pequeñas y amarillas (**Figura 4**). *C. platyloba* se puede encontrar en bosque espinoso, matorral xerófilo, tropical caducifolio, tropical subcaducifolio y vegetación secundaria. Esta especie es nativa de los Estados de Michoacán, Jalisco, Nayarit, Quintana Roo, Sinaloa y Yucatán.

La sinonimia para esta especie es: *Brasilettia blasiana* (M. E. Jones) Britton & Rose; *Brasilettia pilosa*, Britton & Rose; *Brasilettia platyloba* (S. Watson) Britton & Rose; *Brasilettia pubescens*, Britton & Rose; *Caesalpinia blasiana* M. E. Jones; *Caesalpinia platyloba* S. Watson. Los nombres comunes que ostenta esta especie son: frijolillo, coral (Michoacán), chakete viga (Quintana Roo), pájaro o ave del paraíso.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *C. coriaria* y *C. platyloba*.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae
Subfamilia	Caesalpinioidea
Tribu	Caesalpinieae
Género	<i>Caesalpinia</i>
Especies	<i>C. coriaria</i>
	<i>C. platyloba</i>



Figura 4. Fotografías representativas de las especies de *C. coriaria* (a) y *C. platyloba* (b).

1.2.4. Usos del género *Caesalpinia* spp

Todas las especies son de una utilidad proverbial ya que se les emplea como especies ornamentales, comestibles, forrajes y medicina tradicional. Particularmente las especies arbóreas merecen especial interés por ser utilizadas desde tiempos remotos en diversos rubros agroforestales; denominándoseles por lo tanto como árboles multipropósito, el cual se define como: “toda especie perenne leñosa cultivada con el objetivo de obtener una mayor aportación significativa a las funciones de producción y/o de servicio de un sistema de uso de la tierra”.

1.2.4.1. Cerco vivo y ornamental

Uno de los usos reportados tanto en México como en Centroamérica para *C. platyloba* y *C. coriaria* es el ornamental, el cual incluye cortinas rompe vientos, control de la erosión, sombra y barreras o cercas vivas contra insectos y termitas principalmente. Algunas otras especies de este género se emplean con la misma finalidad tales como: *C. cacalaco*, *C. gilliesii* y *C. pulcherrima* (Cordero *et al.*, 2003).

I.2.4.2. Maderable

El género *Caesalpinia* incluye especies maderables las cuales se emplean en diversas actividades domésticas en México y la zona del Caribe; *C. coriaria* es la especie arbórea más utilizada ya que posee una madera dura, pesada, resistente y duradera, se usa principalmente como postes de cerca y en construcción (vigas, horcones) aunque también se emplea para producir carbón y leña. Otras especies con el mismo prestigio son: *C. mexicana*, *C. sclerocarpa*, *C. gaumeri* y *C. platyloba* las cuales son usadas en carpintería. En el Estado de Michoacán principalmente en la costa *C. platyloba* y *C. pulcherrima* (árbol de San Miguel) se emplean en la manufactura de artesanías y barandales (González *et al.*, 2006).

I.2.4.3. Forraje

Otro uso reportado para las especies del género *Caesalpinia* es el forrajero, práctica que está muy extendida ya que comprende desde México hasta Brasil. Principalmente se utilizan las hojas, frutos y semillas; entre las especies que se emplean con este fin podemos encontrar a *C. coriaria*, *C. platyloba*, *C. cacalaco*, y *C. granadillo* (Cordero *et al.*, 2003; Sosa *et al.*, 2004; Román *et al.*, 2006).

I.2.4.4. Medicinal

Caesalpinia spp es muy utilizada en la medicina tradicional, ya que existen reportes desde 1885 en Materia Medica “*Of the New Mexican Pharmacopoeia*”, donde se indican las propiedades astringentes de *C. coriaria* (Maish, 1985). En Centroamérica un estudio muy completo hace referencia al uso medicinal de *C. coriaria*, donde se indica que la cocción de tallos jóvenes o la infusión de fruto se utilizan para tratar diarreas; mientras que la cocción de las hojas se usa para tratar el dolor de estómago, la semilla seca y molida se ingiere para la fiebre. La infusión de corteza, hoja y tallos verdes se utilizan para las afecciones de la piel y heridas, en tanto la cocción de las flores se utiliza para tratar cardialgias y dispepsias. Además la cocción del fruto se emplea en gargarismos para combatir infecciones de garganta; por último, las raíces se utilizan como desinfectante contra gangrena a pesar de su fuerte olor fétido (Cordero *et al.*, 2003). Un estudio realizado en el Estado de Michoacán indica que las hojas y la corteza de *C. platyloba* se utilizan en medicina veterinaria como purgantes, en tanto la corteza de *C. coriaria* es empleada en el tratamiento de heridas de animales (González *et al.*, 2006).

I.3. Fitoquímica del género *Caesalpinia* spp

Los constituyentes químicos reportados para el género *Caesalpinia* incluyen alcaloides, saponinas, fenoles, flavonoides, aminoácidos, hidratos de carbono, diterpenos tipo diterpenfuranos, triterpenos, fitosteroles y ácidos grasos (Viglierchio *et al.*, 2000). La fitoquímica del género *Caesalpinia* resulta ser interesante ya que existen reportes para *C. coriaria* desde 1885 en “*Of the New Mexican Pharmacopoeia*” en los cuales se hace mención de este árbol como una fuente importante de taninos (30%) y ácido gálico (17%) (Maish, 1985). En el caso de *C. platyloba* no existen reportes acerca de su fitoquímica.

En Centroamérica *C. coriaria* es un árbol de importancia comercial, ya que su fruto es comercializado debido a que el polvo amarillento que rodea sus semillas dentro de las vainas, contiene alrededor de un 50% de taninos los cuales son utilizados para curtir cuero (Cordero *et al.*, 2003). Otros compuestos relacionados que se extraen de las vainas y la corteza se usan en la preparación de tintes azules y negros para cuero y lana (Sosa *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Usos de las especies arbóreas del género *Caesalpinia* spp

Especie de <i>Caesalpinia</i> spp	Nombre común	Sinonimia	Usos	Referencia
<i>C. cacalaco</i>			Se emplea como especie ornamental. Los frutos y las hojas se utilizan como forraje.	Cordero <i>et al.</i> , (2003) Román <i>et al.</i> , (2006) Sosa <i>et al.</i> , (2006)
<i>C. coriaria</i>	Cascalote	<i>C. thomaea</i> <i>Libidibia coriaria</i> <i>Poinciana coriaria</i>	Se utiliza como especie ornamental y maderable. Los frutos y las hojas se usan como forraje. La flor se emplea para tratar cardialgias y dispepsias, los frutos para infecciones de garganta, las hojas y los tallos para afecciones de la piel y heridas y la raíz como desinfectante (gangrena).	Cordero <i>et al.</i> , (2003) González <i>et al.</i> , (2006) Román <i>et al.</i> , (2006) Sosa <i>et al.</i> , (2006)
<i>C. gaumeri</i>			Se utiliza como especie maderable	Cordero <i>et al.</i> , (2003)
<i>C. mexicana</i>	Ave del paraíso	<i>Poinciana mexicana</i> <i>Poincinella mexicana</i>	Se utiliza como especie maderable	Cordero <i>et al.</i> , (2003) http://www.pcmg-texas.org/pride_of_barbados.pdf (4)
<i>C. platyloba</i>	Frijolillo, coral	<i>C. blasiana</i> <i>Brasilettia blasiana</i> <i>B. pilosa</i> <i>B. platyloba</i> <i>B. pubescens</i>	Se emplea como especie ornamental y maderable. Las hojas y los tallos se utilizan como forraje. Las hojas se utilizan como purgante (Veterinaria).	Cordero <i>et al.</i> , (2003) González <i>et al.</i> , (2006) Román <i>et al.</i> , (2006) Sosa <i>et al.</i> , (2006)
<i>C. pulcherrima</i>	Tabachín	<i>Poinciana bijuga</i> <i>P. pulcherrima</i>	Se emplea como especie ornamental y maderable. Las hojas se utilizan como purgante, para tratar cálculos renales, fiebre palúdica y bronquitis (Surinam)	Cordero <i>et al.</i> , (2003) González <i>et al.</i> , (2006) http://www.mx-nr-crt-p2-es-biodiversidad_michoacan.pdf (3)

II. JUSTIFICACIÓN

El abuso de los plaguicidas de uso comercial, entre los que se encuentran los antifúngicos, son los causantes del surgimiento de cepas de microorganismos resistentes a este tipo de compuestos químicos. Siendo necesaria la búsqueda de nuevas alternativas químicas para controlar a estos microorganismos nocivos. Las plantas son una alternativa en la búsqueda de nuevos principios activos que tengan la capacidad de inhibir el desarrollo de los diversos grupos de microorganismos y posean la cualidad de no generar toxicidad residual.

Se estima que el país cuenta con 33.5 millones de hectáreas de bosque, 32.11 millones de hectáreas de selvas, 58.08 millones de hectáreas de zonas áridas y semiáridas, 2.58 millones de hectáreas de vegetación hidrófila, 6.95 millones de hectáreas de vegetación inducida y 12.38 millones de hectáreas de pastizales (1). México es uno de los países considerado como megadiversos, lo cual le confiere una riqueza florística vasta, contando con más de 30,000 especies vegetales, siendo Chiapas, Jalisco, Michoacán, Oaxaca y Veracruz los estados que presentan mayor diversidad vegetal.

El Estado de Michoacán cuenta con una superficie forestal de 4,206,451 ha (71.38%) de las cuales los bosques cubren 1,544,353.3 ha (36.7%) y las selvas 1,058,374 (25.2%) (2). De las cerca de 5,000 especies vegetales que ostenta la entidad existen escasos estudios fitoquímicos, en especial de las especies nativas. Se puede citar el caso de las especies pertenecientes al género *Caesalpinia*, específicamente *C. coriaria* y *C. platyloba*, ambas de suma importancia ya que se emplean en medicina tradicional, forraje y como especies maderables. Su fitoquímica se empieza a conocer mediante el estudio de la búsqueda de metabolitos secundarios con actividad citotóxica y antifúngica, así como la variación de sus componentes volátiles (Espinoza, 2010; Pamatz, 2010; Salvador, 2010). En una continuación de esta investigación, se hizo un estudio de los componentes volátiles de los aceites esenciales de corteza, albura y duramen de *C. coriaria* y *C. platyloba*.

III. HIPÓTESIS

C. coriaria y *C. platyloba* difieren en la composición y distribución química de sus componentes volátiles en corteza, albura y duramen y presentan efecto antifúngico.

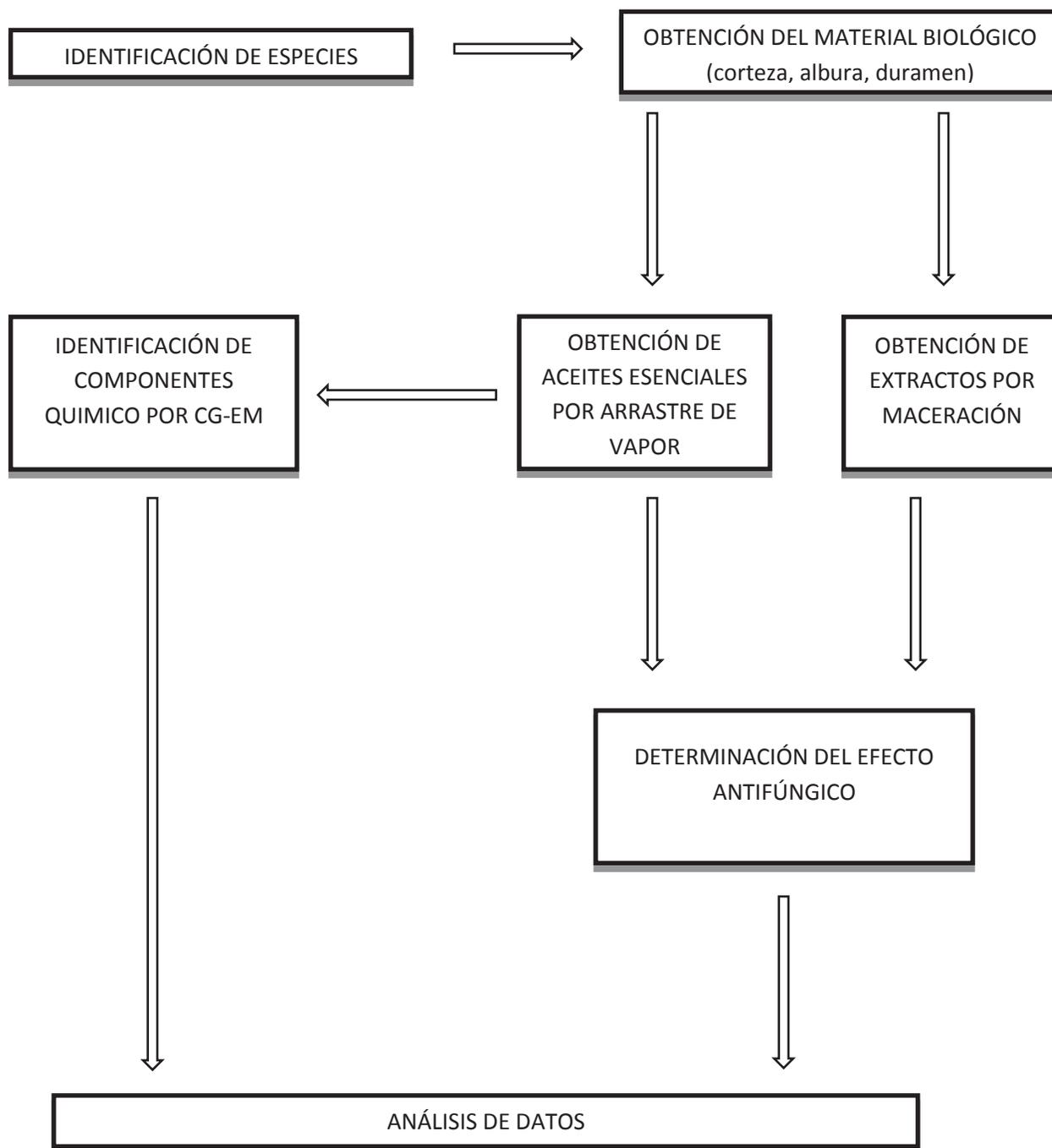
IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar la distribución de los componentes químicos volátiles obtenidos de la corteza, albura y duramen de *C. coriaria* y *C. platyloba*.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar los componentes químicos volátiles de *C. coriaria* y *C. platyloba* presentes en corteza, albura y duramen.
- Determinar el efecto antifúngico de los aceites esenciales y de los extractos de *C. coriaria* y *C. platyloba*.

VI. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



VII. MATERIALES Y MÉTODOS

VII.1. Hongos utilizados

Filamentosos. Los hongos filamentosos utilizados fueron *Diaporthe phaseolarum*, *Olygoporus* sp 5319, *Phomopsis viticola* 5120, *Colletotrichum acutatum* 5446, *C. acutatum* 10, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25, todos aislados silvestres obtenidos de frutos de aguacate variedad Hass con pudrición peduncular y *C. lindemuthianum* hongo fitopatógeno del frijol común.

VII.2. Material vegetal

Colecta de los especímenes vegetales

El árbol de *C. coriaria* fue colectado el 6 de noviembre del 2010 en La Huacana a una altura de 480 msnm y una latitud de N 18°58', W 101° 48' y *C. platyloba* fue colectada en Los Charcos, Apatzingán, a una altitud de 220 msnm y una latitud de N 19°00.940', W 102° 24.668' (**Figura 5**).

Una vez colectados los especímenes se separaron sus órganos corteza, albura y duramen. Los aceites esenciales fueron obtenidos por hidrodestilación, mientras que los extractos fueron obtenidos por maceraciones sucesivas a temperatura ambiente hasta agotar componentes.

VII.3. Obtención de los aceites esenciales de *C. coriaria* y *C. platyloba*

Para la extracción de los aceites esenciales de corteza, albura y duramen, el material biológico fue seccionado y reducido a viruta, se pesaron 790 g de corteza, 500 g de albura y 545 g de duramen de *C. coriaria*; para la extracción de los aceites esenciales de *C. platyloba* se pesaron 710 g de corteza, 500 g de albura y 495 g de duramen. Se colocó el material biológico en un matraz balón de 5 l y en otro matraz balón se colocaron de 3-4 l de agua destilada y se sometió a ebullición en manta de calentamiento para la generación de vapor de agua. El vapor generado pasa al segundo matraz que contiene la muestra a extraer, la mezcla de vapor de agua y aceites esenciales se condensa en un refrigerante y el hidrodestilado se recibe en un matraz balón de 0.5 l.

El tiempo de hidrodestilación fue de 3 h (el cual comprende desde que se hidrodestiló la primer gota hasta transcurrido el tiempo antes mencionado). El hidrodestilado se guardó en un frasco para su separación, la cual se realizó en un embudo de separación con cloruro de metileno en una proporción 1:1 con agitación hasta homogenizar la muestra, este proceso se realizó tres veces y se colectó la fase inferior (fase orgánica) evitando que pasara parte de la fase superior (fase acuosa). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en rotavapor el cual tenía una temperatura de 35 °C, el aceite concentrado se guardó en un vial de 5 ml previamente pesado y se cerró herméticamente. Una vez libre de disolvente se pesó y se guardó en refrigeración a una temperatura de 4 °C para su posterior análisis por CG-EM.

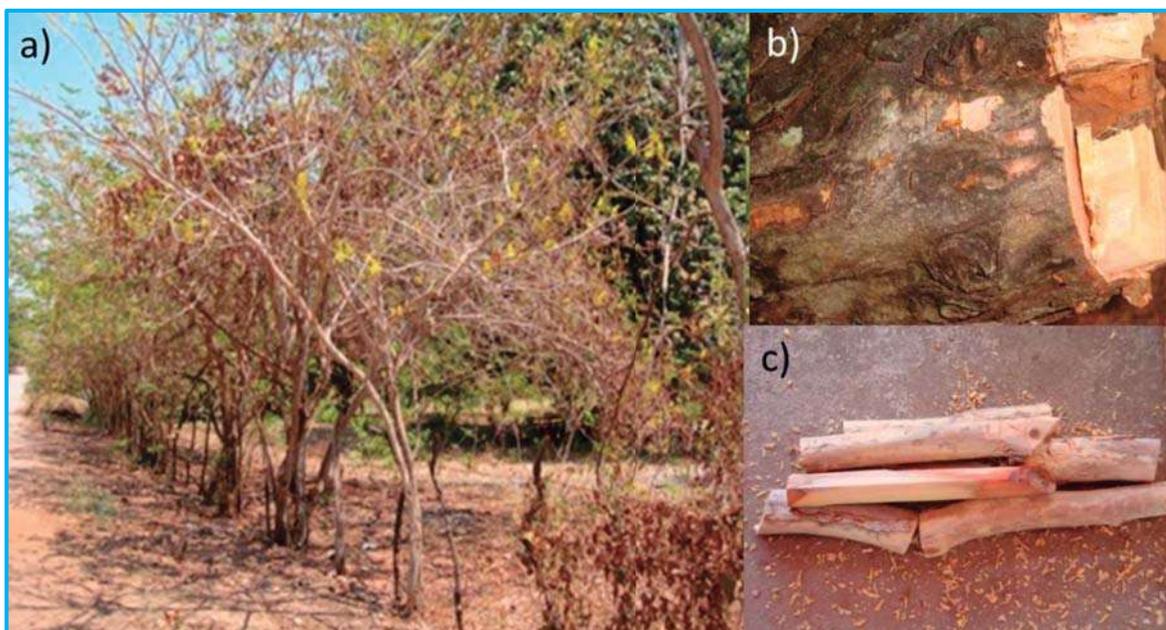
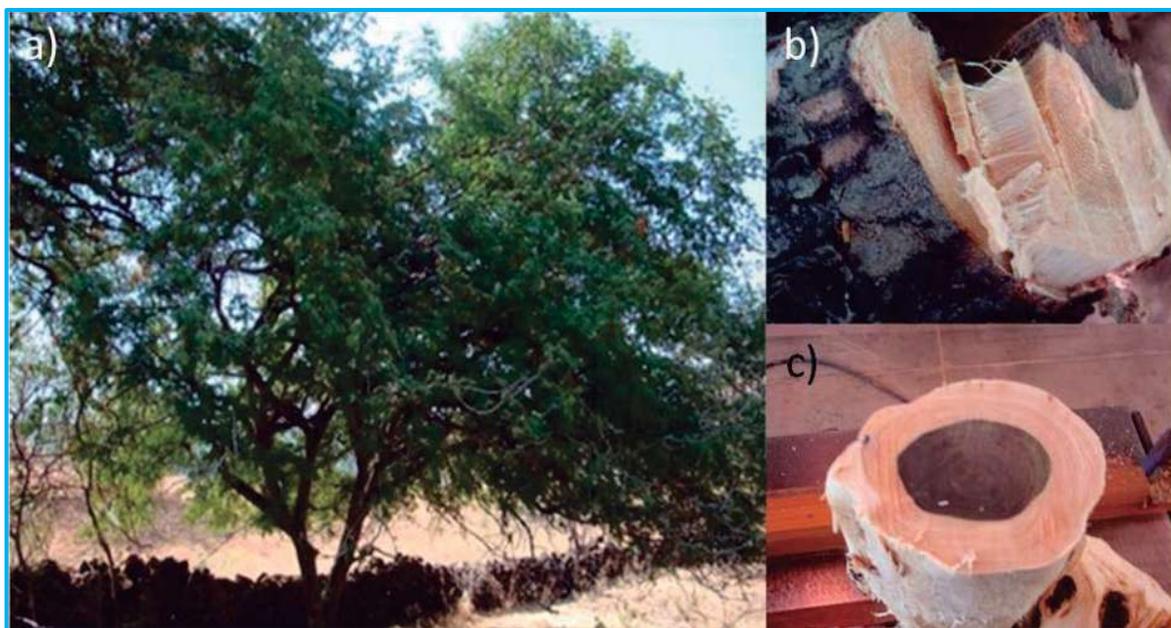


Figura 5. Árboles utilizados. Imagen superior *C. coriaria*: a). Árbol completo, b). Corteza y albura, c). Albura y duramen. Imagen inferior *C. platyloba*: a). Árbol completo, b). Corteza y albura, c). Duramen.

VII.4. Obtención de los extractos de *C. coriaria* y *C. platyloba*

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer. Para la obtención de los extractos de corteza, albura y duramen se realizó por polaridad ascendente con hexano, cloruro de metileno y metanol de acuerdo a Ramírez en 2010. Se pesaron 425 g de corteza, 215 g de albura y 355 g de duramen de *C. coriaria* y para los extractos de *C. platyloba* se pesaron 245 g de albura y 495 g de duramen. Cada una de las partes del tronco se colocó en frascos separados y protegidos de la luz. En la primera etapa de extracción se adicionó hexano y se dejó macerar por tres días, posteriormente se concentró en rotavapor a una temperatura de 68 °C y el disolvente recuperado (hexano) se volvió a verter con la misma muestra por otros tres días, repitiéndose este proceso hasta agotar componentes, obteniéndose un extracto no polar. Una vez concluido el proceso de extracción con hexano, se continuó con la segunda etapa de extracción, para lo cual, el residuo sólido se dejó airear 24 h hasta evaporar disolvente; posteriormente se adicionó cloruro de metileno, es un disolvente de polaridad intermedia, dejándose macerar durante tres días y se concentró en rotavapor a 35 °C, el disolvente recuperado se volvió a verter en la muestra y de la misma forma se repitió este proceso hasta agotar componentes, se obtuvo un compuesto de polaridad intermedia. Finalmente en una tercera etapa de extracción se adicionó metanol de manera similar a las etapas anteriores; para la obtención del extracto polar, se concentró en rotavapor a una temperatura de 70 °C. Los extractos obtenidos por maceración fraccionada se utilizaron para el análisis químico y biológico. En total se obtuvieron nueve extractos de *C. coriaria*. Obteniéndose solamente cuatro extractos de *C. platyloba*. Una vez analizados los extractos se almacenaron en refrigeración a una temperatura de 4 °C hasta su uso.

VII.5. Ensayos biológicos

VII.5.1. Preparación del medio mínimo líquido

Se preparó medio mínimo (Bartnicki-García y Nickerson, 1962) los componentes del medio de cultivo (**Cuadro 4**) se disolvieron en amortiguador a pH de 4.5 y se esterilizó por filtración.

VII.5.2. Preparación de los aceites esenciales y las sustancias control

Cada uno de los aceites esenciales se disolvieron en DMSO (Dimetil sulfóxido), se utilizó un inóculo de esporas (10^7 esporas/ μl), empleando como control negativo el DMSO (1.4×10^{-5} mg/ μl). Se adicionó un volumen de 1 μl de cada aceite esencial a una concentración de 0.002 mg/ μl .

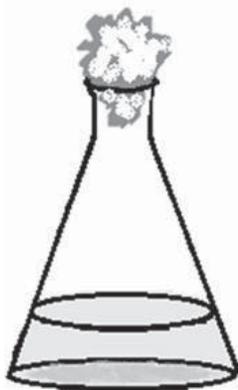
Cuadro 4. Composición del medio mínimo.

COMPONENTE	AMORTIGUADOR (g/l)
Glucosa	20.0
Fosfato potásico monobásico (KH_2PO_4)	3.0
Sulfato magnésico ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5
Nitrato amónico (NH_4NO_3)	0.5
Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.8×10^{-3}
Sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1×10^{-3}
Tiamina	1×10^{-3}
Ácido nicotínico	1×10^{-3}
Sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	4×10^{-4}
Sulfato manganésico ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	3×10^{-4}

VII.5.3. Método para la determinación de la inhibición de esporas

Las esporas utilizadas fueron obtenidas del hongo fitopatógeno *Colletotrichum lindemuthianum* Afg2 en una concentración de 5×10^8 esporas. Se tomaron 3.5 μl de la concentración inicial para realizar una dilución 1:10 hasta obtener una concentración final de 10^7 esporas/ μl , obtenida la concentración final se tomó 1 μl de la misma y se procedió a inocular 20 matraces Erlenmeyer con un volumen de 20 ml de medio mínimo, de los cuales 18 contenían 1 μl de aceite esencial (0.002 mg/ μl), utilizando como control negativo DMSO (1.4×10^{-5} mg/ μl) (**Fig. 8**).

Terminada la inoculación se sometieron a agitación durante un período de 24 h a 150 rpm, se filtraron en discos de papel filtro de nitrocelulosa de poro tamaño medio previamente pesado en un sistema de vacío. Posteriormente se determinó el peso fresco y se colocaron en una estufa a 40 °C por un período de 48 h hasta obtención de peso constante y se cuantificó el peso seco.



1. Aceite esencial (0.002 mg/ μl)
2. DMSO (1.4×10^{-5} mg/ μl)

Figura 6. Esquema del método de inoculación de esporas para determinar el efecto inhibitorio de los aceites esenciales.

VII.5.4. Preparación del medio de cultivo sólido

Se preparó de acuerdo a las indicaciones de la marca comercial BIOXON, utilizando 39 g del medio por 1 l de agua tridestilada. Se esterilizó a 1.5 libras de presión durante 15 minutos.

VII.5.5. Preparación de los extractos y las sustancias control

Cada uno de los 13 extractos se disolvieron en etanol al 96% (1 g/ml), utilizando como control positivo tiabendazol [2-(tiazol-4-il) benzimidazol] y el control negativo etanol al 96% de acuerdo a García en 2010. De cada uno se agregó un volumen de 6 μ l teniendo las siguientes concentraciones: extracto (0.5 mg/ μ l), tiabendazol [2-(tiazol-4-il) benzimidazol] (0.001 mg/ μ l) y etanol (0.8 mg/ μ l).

VII.5.6. Método de difusión en agar para hongos filamentosos

Los hongos filamentosos utilizado se sembraron en placas de agar papa dextrosa, se crecieron por siete días a temperatura ambiente y protegidos de la luz.

Las placas con los patógenos fueron cuadrículadas con ayuda de un bisturí estéril en cubos de 5 mm³, después en placas de agar papa dextrosa se colocaron cinco discos de papel filtro por caja, en tres de ellos se colocaron los extractos de cada una de las partes del tronco (0.5 mg/ μ l), un control positivo que fue tiabendazol [2-(tiazol-4-il) benzimidazol] (0.001 mg/ μ l) y un control negativo que fue etanol al 96% (0.8 mg/ μ l), de todos ellos se agregó un volumen de 6 μ l a cada disco (**Fig. 9**). Se incubaron a temperatura ambiente protegidos de la luz y se determinó el índice de crecimiento (IC) al segundo, tercer y cuarto día.

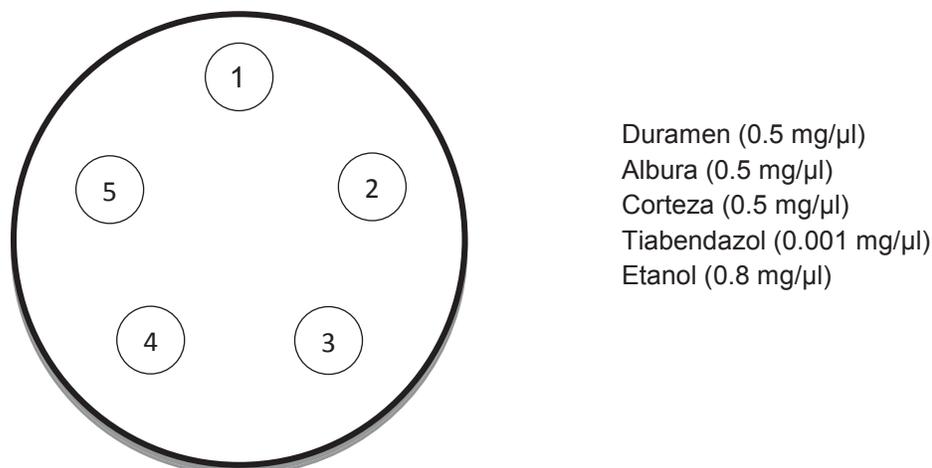


Figura 7. Esquema del método de difusión en agar para determinar el efecto inhibitorio del crecimiento de los hongos filamentosos.

VII.6. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Obtenidos los aceites esenciales y los macerados, se procedió a su análisis por Cromatografía de Gases (CG) y Espectrometría de Masas (EM). Se utilizó un cromatógrafo de gases (CG) marca Hewlett-Packard modelo 5890 series II plus acoplado a un detector de masas marca Hewlett-Packard modelo 5989-B.

VII.6.1. Condiciones del cromatógrafo de gases

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: se utilizó como fase móvil (gas de arrastre) Helio y una columna cromatográfica capilar de alta resolución HP-5MS marca J&W Scientific (19091S-433) de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de la fase estacionaria la cual fue (5-fenil metilpolisiloxano). La temperatura del inyector y de la interfase (dispositivo o línea de transferencia que une al CG con el EM) fueron de 240 °C y 260 °C respectivamente.

Las condiciones de operación del horno cromatógrafico fueron: temperatura inicial de 50 °C por 5 minutos, después la temperatura subió hasta 200 °C a una velocidad de 20 °C/min, en está temperatura permaneció por cinco minutos, para posteriormente incrementar la temperatura hasta 250 °C a una velocidad de 20 °C/min; donde se mantuvo isotérmicamente por un tiempo de 10-20 minutos.

VII.6.2. Condiciones del espectrómetro de masas

Las condiciones del espectrómetro de masas fueron las siguientes: la temperatura de la fuente de iones de 200 °C con un filtro de masas a una temperatura de 100 °C y una energía de ionización de 70 eV.

VII.6.3. Identificación de los componentes de los aceites esenciales

La identificación de los espectros obtenidos se comparó con la base de datos NIST 2002 (National Institute of Standards and Technology Mass Spectral Database). El porcentaje mínimo de comparación para un componente fue del 70%.

VII.7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistic 7.0. Todos los experimentos se realizaron por triplicado, se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias utilizada fue Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

VII.8. Análisis de resultados

VIII.8.1. Determinación del peso fresco y seco de *C. lindemuthianum*

Se determinó la germinación del patógeno *C. lindemuthianum* de la siguiente manera:

$$\text{Peso fresco} = \text{Peso 2} - \text{Peso 1}$$

Donde:

Peso 2 = Peso del papel filtro con la muestra recientemente filtrada

Peso 1 = Peso inicial del papel sin la muestra

$$\text{Peso seco} = \text{Peso 3} - \text{Peso 1}$$

Peso 3 = Peso constante del papel filtro con la muestra después del secado en estufa.

Peso 1 = Peso inicial del papel filtro sin la muestra.

VIII.8.2. Determinación del Índice de Crecimiento

Se determinó el Índice de Crecimiento (IC) para los hongos filamentosos de la siguiente manera:

$$\text{IC} = \text{Ct} / \text{Cc}$$

Donde:

Ct = Crecimiento del hongo filamentosos con extracto.

Cc = Crecimiento del hongo filamentosos con etanol.

Un IC= 1, significa que el crecimiento del hongo en el tratamiento es igual al crecimiento del hongo en el control, un IC> 1, significa que el crecimiento en el tratamiento es mayor que en el control y por lo tanto no es efectivo y un IC< 1 nos indica que el crecimiento del hongo en el tratamiento es menor que el control y por lo tanto se considera efectivo.

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Rendimiento de aceites esenciales y extractos de *C. coriaria* y *C. platyloba*

Se colectó un lote de madera, la cual fue separada en sus respectivos órganos; corteza, albura y duramen, de dos diferentes localidades: La Huacana y Los Charcos, Apatzingán. Se obtuvieron seis aceites esenciales y trece extractos, en el **Cuadro 5** se muestran los rendimientos de los aceites esenciales y de los extractos.

VIII.2. Análisis de los componentes presentes en los árboles de *C. coriaria* y *C. platyloba*

Obtenidos los aceites esenciales se procedió a identificar sus constituyentes químicos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Identificando 30 compuestos químicos para *C. coriaria* (**Cuadro 6**) de los cuales 13 se encuentran en corteza, 9 en albura y 8 en duramen. En tanto *C. platyloba* presenta 40 componentes químicos (**Cuadro 7**) 19 de ellos se encuentran en la corteza, 15 en albura y 6 en duramen.

VIII.3. Determinación del efecto germinativo de los aceites esenciales sobre esporas de *C. lindemuthianum*

Los aceites esenciales de *C. coriaria* y *C. platyloba* no presentan actividad inhibitoria sobre la germinación de esporas de *C. lindemuthianum* (**Fig. 8**).

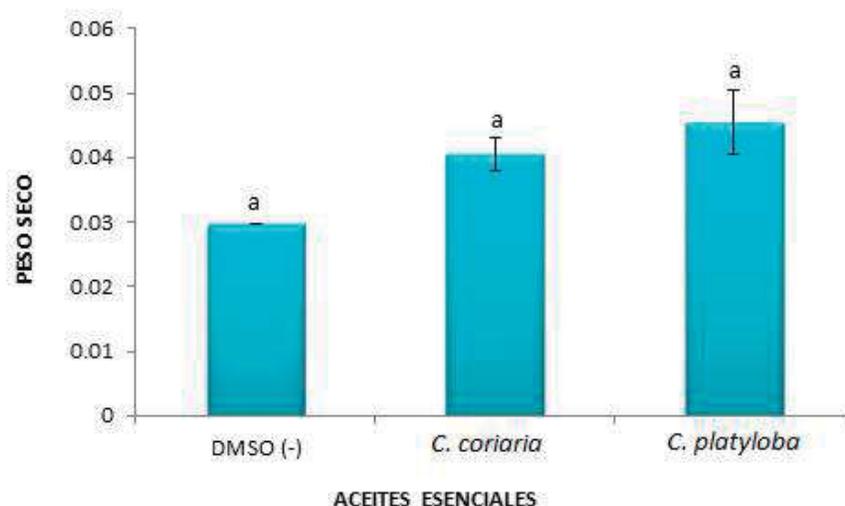


Figura 8. Efecto de los aceites esenciales de *C. coriaria* y *C. platyloba* en la germinación de esporas de *C. lindemuthianum*. Los valores presentados indican el crecimiento micelial y son promedio de tres experimentos independientes. Barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Cuadro 5. Rendimiento porcentual y propiedades organolépticas de los aceites esenciales y extractos de *C. coriaria* y *C. platyloba*. 1= Aceite esencial, 2= Hexano, 3= Cloruro de metileno, 4= Metanol, ND= No determinado.

Árbol	Órgano vegetal	Peso (g)	Rendimiento (%)	Propiedades organolépticas	
				Color	Olor
<i>C. coriaria</i> La Huacana	Corteza 1	790	0.0169	Naranja	Aromático
	Corteza 2	425	0.1390	Amarillo	Agradable
	Corteza 3	424	0.2857	Verde oscuro	Aromático
	Corteza 4	423	11.759	Rojo	Desagradable
	Albura 1	500	0.005	Amarillo	Desagradable
	Albura 2	215	0.5739	Amarillo claro	Agradable
	Albura 3	213	0.1857	Naranja oscuro	Aromático
	Albura 4	212	2.5696	Amarillo	Desagradable
	Duramen 1	545	0.004	Amarillo	Desagradable
	Duramen 2	355	0.2160	Amarillo	Agradable
	Duramen 3	305	0.0826	Caramelo	Aromático
	Duramen 4	299	17.577	Café	Desagradable
<i>C. platyloba</i> Los Charcos, Apatzingán	Corteza 1	710	0.0162	Naranja	Aromático
	Corteza 2	ND	ND	ND	ND
	Corteza 3	245	4.1064	Amarillo claro	Aromático
	Corteza 4	ND	ND	ND	ND
	Albura 1	500	0.034	Amarillo	Desagradable
	Albura 2	ND	ND	ND	ND
	Albura 3	234	1.8	Naranja	Aromático
	Albura 4	ND	ND	ND	ND
	Duramen 1	495	0.0022	Amarillo	Desagradable
	Duramen 2	ND	ND	ND	ND
	Duramen 3	230	4.3352	Rojo-Naranja	Desagradable
	Duramen 4	240	10.027	Rojo	Desagradable

Cuadro 6. Abundancia (%) de los compuestos identificados en los aceites esenciales de madera de *C. coriaria*.

No.	NOMBRE	RT (min)	CORTEZA	ALBURA	DURAMEN
1	Ácido nonanoico	10.548	2.29		4.5
2	Tetradecano	11.358	1.62		
3	3-hidroxi-4-metoxi-benzaldehido (vainillina)	11.647	2.91		
4	Heptadecano	13.267	2.36		4.29
5	(E)-2-tridecen-1-ol	13.440	3.48		
6	Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	16.014	1.45		
7	(8 β ,13 β)-kaur-16-eno	17.692	0.62		
8	<i>n</i> -butil hexadecanoato	19.282	0.99	1.55	
9	(Z)-9-octadecenamida	20.902	0.36		
10	<i>n</i> -butil octadecanoato	21.046	0.67	1.16	5.06
11	bis (2-etilhexil) adipato	21.191	6.18		
12	(5 α ,17 α)-pragnan-20-ona	21.422	2.09		
13	Escualeno	27.553	22.01		
14	(E,E)-2,4-decadienal	10.894		0.4	
15	(E)-6,10-dimetil-5,9-undecandien-2-ona	11.761		0.4	5.35
16	Pentadecanal	12.745		0.59	
17	Pentadecanal	13.439		2.68	
18	1,15-pentadecanodiol			TRAZAS	
19	<i>cis,cis</i> -7,10-hexadecadienal	15.087		3.42	
20	<i>cis,cis,cis</i> -7,10,13-hexadecatrienal	15.145		4.2	
21	Ácido <i>n</i> -decanoico	11.241			3.29
22	Nonadecano	15.087			4.06
23	Eicosano	16.475			1.56
24	Heneicosano	18.211			0.9

Cuadro 7. Abundancia (%) de los compuestos identificados en los aceites esenciales de madera de *C. platyloba*.

No.	NOMBRE	RT (min)	CORTEZA	ALBURA	DURAMEN
1	3-hidroxi-4-metoxi-benzaldehido (vainillina)	11.646	1.13		
2	2,4-bis (1,1-dimetil) fenol	12.225	28.68	9.3	
3	Óxido de cariofileno	12.716	7.9		
4	1-yodo-2-metil-undecano	13.265	1.06		
5	(E)-15-heptadecenal	14.017	0.98		
6	1-octadeceno		TRAZAS		
7	Octadecano	14.065	0.34		0.27
8	17-pentatriaconteno	15.030	0.15		
9	Nonadecano	15.087	0.59		
10	Ácido n-hexadecanoico	16.013	1.13		
11	Cicloicosano	16.389	1		
12	Eicosano	16.476	0.45		TRAZAS
13	Óxido de 13-epimanoil	16.794	0.51		
14	(8 β ,13 β)-kaur-16-ona	17.690	1.21		
15	1-docoseno	18.124	0.25		
16	Heneicosano	18.211	0.49		
17	n-butyl hexadecanoato	19.281	5.48	0.62	
18	n-butyl octadecanoato	21.045	6.81	1	
19	bis (2-etilhexil) adipato	21.160	2.21	0.32	
20	Acetato de 2-etoxietil	6.352		3.59	
21	propil-benceno	7.104		1.07	
22	1-etil-3-metil-benceno	7.249		9.17	
23	1,2,4-trimetil-benceno	7.769		20.15	
24	1,2,3-trimetil-benceno	8.145		12.05	
25	Indano	8.290		3.42	
26	2-metil-decano	8.579		0.48	
27	Undecano	8.955		5.12	
28	Dodecano	9.880		1.49	
29	Tridecano	10.662		2.54	
30	Tetradecil tricloro acetato	14.016		0.23	
31	4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahidro-4h-benzofuran-2-ona	12.426			1.33
32	Hexadecano	13.265			1.04
33	kaur-16-eno	16.128			19.2
34	7-etenil-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10a-dodecahidro-1,1,4a,7-tetrametil-[4 α -(4 α ,4 β ,7 β ,10 α)]-fenantreno	22.317			11.24

Cuadro 8. Componentes caracterizados por grupo funcional presentes en los aceites esenciales de *C. coriaria* y *C. platyloba*.

GRUPO FUNCIONAL	COMPUESTO QUÍMICO	<i>C. coriaria</i>	<i>C. platyloba</i>
ALCANOS	Tetradecano	X	
	Heptadecano	X	
	Nonadecano	X	X
	Eicosano	X	X
	Heneicosano	X	X
	Octadecano		X
	Cicloeoicosano		X
	Indano		X
	Undecano		X
	Dodecano		X
	Tridecano		X
	Hexadecano		X
	2-metil-decano		X
	1-yodo-2-metil-undecano		X
ALQUENOS	(8 β ,13 β)-kaur-16-eno	X	
	Escualeno	X	
	1-octadeceno		X
	17-pentatriaconteno		X
	1-docoseno		X
	Kaur-16-eno		X
	7-etenil-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,10,10a-dodecahidro-1,1,4a,7-tetrametil-[4a-(4 α ,4 β ,7 β ,10 α)]-fenantreno		X
ARÓMATICOS	Propil-benceno		X
	1-etil-3-metil-benceno		X
	1,2,4-trimetil-benceno		X
	1,2,3-trimetil-benceno		X
ALCOHOLES	(<i>E</i>)-2-tridecen-1-ol	X	
	1,15-pentadecanodiol	X	
FENOLES	2,4-bis (1,1-dimetiletil) fenol		X
EPÓXIDOS	Óxido de cariofileno		X
	Óxido de 13-epimanoil		X
ALDEHÍDOS	3-hidroxi-4-metoxi-benzaldehído	X	X
	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	X	
	Pentadecanal	X	
	<i>cis,cis</i> -7,10-hexadecadienal	X	
	<i>cis,cis,cis</i> -7,10,13-hexadecatrienal	X	
	(<i>E</i>)-15-heptadecenal		X

CETONAS	(5 α ,17 α)-pragnan-20-ona	X	
	(<i>E</i>)-6,10-dimetil-5,9-undecandien-2-ona	X	
	(8 β ,13 β)-kaur-16-ona		X
	4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahidro-4h-benzofuran-2-ona		X
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS	Ácido nonanoico	X	
	Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	X	X
	Ácido <i>n</i> -decanoico	X	
ÉSTERES	<i>n</i> -butil hexadecanoato	X	X
	<i>n</i> -butil octadecanoato	X	X
	bis-(2-etilhexil) adipato	X	X
	Acetato de 2-etoxietil		X
	Tetradecil tricloro acetato		X
AMIDAS	(<i>Z</i>)-9-octadecenamida	X	

Cuadro 9. Abundancia (%) de los compuestos identificados en el extracto hexánico total y cloruro metilénico de *C. coriaria*.

No.	EXTRACTO	NOMBRE	RT (min)	CORTEZA	ALBURA	DURAMEN
1	HEXÁNICOS	9-octadecenal	15.144	0.597		
2		Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	16.051	3.903	2.122	1.479
3		Ácido oleico	18.848	2.203		8.353
4		Octadecano	14.085		0.991	
5		Nonadecano	15.102		0.726	
6	CLORURO METILÉNICOS	2-butoxi-etanol	6.427	3.058		
7		Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	16.011	2.151	0.332	1.356
8		Ácido oleico	18.826	1.782		4.104
9		3,5-bis-(1,1-dimetiletil)-fenol	12.181		0.666	
10		Pentanamida	21.163		1.055	
11		2,4-bis-(1,1-dimetiletil)-fenol	12.178			0.499
12		(<i>Z</i>)-9-octadecenamida	19.313			0.759
13		Octadecanamida	21.047			2.672
14		Hexadecanamida	21.206			1.139

VIII.4. Actividad antifúngica de los extractos de *C. coriaria* y *C. platyloba* sobre el crecimiento de hongos filamentosos

VIII.4.1. Extractos hexánicos totales de *C. coriaria*

En *C. acutatum* 5446, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25 confrontados con los extractos hexánicos no se encontró diferencia significativa respecto al control positivo. En *Olygoporus sp* 5319 los extractos presentaron un efecto fungicida siendo mejores que el Tecto 60[®] quien presentó efecto fungistático. El Tecto 60[®] presentó un efecto fungicida contra los fitopatógenos *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum*, un efecto análogo contra *P. viticola* 5120 lo presentó el tratamiento con el extracto de duramen; el extracto de corteza tuvo un efecto fungicida contra *D. phaseolarum* (**Cuadro 10**).

VIII.4.2. Extractos cloruro metilénicos de *C. coriaria*

Los extractos de albura y corteza ejercieron un efecto fungistático contra *C. acutatum* 5446. Sin embargo, para *C. acutatum* 10 y *C. acutatum* 21 se observó un efecto fungistático con el extracto de albura. En *C. acutatum* 25 ningún extracto fue efectivo. En *Olygoporus sp* 5319 no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos y el control positivo. En *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum* el Tecto 60[®] mostró un efecto fungicida y los extractos no presentaron efecto contra estos fitopatógenos (**Cuadro 11**).

VIII.4.3. Extractos metanólicos de *C. coriaria*

C. acutatum 5446, *C. acutatum* 10, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25 fueron insensibles a los extractos. El extracto de duramen tuvo un efecto fungicida contra *Olygoporus sp* 5319, mostrando así ser mejor que el control positivo (**Cuadro 12**).

Cuadro 10. Actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de *C. coriaria*. Los valores presentados son promedio del día 4. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO				
	Tecto 60 Control (+)	Etanol Control (-)	Duramen <i>C. coriaria</i>	Albura <i>C. coriaria</i>	Corteza <i>C. coriaria</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.56 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0 b	0.59 ± 0.03 a	0.68 ± 0.04 a	0.6 ± 0.04 a
<i>C. acutatum</i> 10	0.49 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 c	0.92 ± 0.06 bc	0.68 ± 0.04 b	0.88 ± 0.10 bc
<i>C. acutatum</i> 21	0.52 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.73 ± 0.11 a	0.64 ± 0.07 a	0.8 ± 0.13 a
<i>C. acutatum</i> 25	0.5 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.55 ± 0.11 a	0.5 ± 0.07 a	0.37 ± 0.13 a
<i>Olygoporus sp</i> 5319	0.92 ± 0.04 b	1.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a	0.61 ± 0.05 b	0.74 ± 0.05 b
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 a	0.68 ± 0.10 b	0.0 ± 0.0 a

Cuadro 11. Actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de *C. coriaria*. Los valores presentados son el resultado del día 4 de observación. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO				
	Tecto 60	Etanol	Duramen	Albura	Corteza
	Control (+)	Control (-)	<i>C. coriaria</i>	<i>C. coriaria</i>	<i>C. coriaria</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.57 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0 b	1.2 ± 0.09 c	0.74 ± 0.10 ab	0.86 ± 0.08 ab
<i>C. acutatum</i> 10	0.49 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.92 ± 0.06 b	0.68 ± 0.04 ab	0.88 ± 0.10 b
<i>C. acutatum</i> 21	0.57 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	1.2 ± 0.05 c	0.72 ± 0.04 ab	1.0 ± 0.10 b
<i>C. acutatum</i> 25	0.5 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 c	0.9 ± 0.07 b	0.82 ± 0.09 b	0.89 ± 0.04 b
<i>Olygoporus</i> sp 5319	0.92 ± 0.04 a	1.0 ± 0.0 a	1.2 ± 0.0 a	1.0 ± 0.11 a	0.95 ± 0.18 a
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 bc	1.0 ± 0.16 bc	0.71 ± 0.03 b	1.2 ± 0.10 c
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	1.3 ± 0.06 c	1.2 ± 0.03 bc	1.3 ± 0.0 c

Cuadro 12. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de *C. coriaria*. Los valores presentados son el resultado del día 4 de observación. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO				
	Tecto 60	Etanol	Duramen	Albura	Corteza
	Control (+)	Control (-)	<i>C. coriaria</i>	<i>C. coriaria</i>	<i>C. coriaria</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.57 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0b	0.82 ± 0.07 b	0.9 ± 0.01 bc	0.96 ± 0.01 bc
<i>C. acutatum</i> 10	0.57 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.81 ± 0.05 b	0.79 ± 0.03 b	1.0 ± 0.04b
<i>C. acutatum</i> 21	0.52 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.93 ± 0.03 b	0.83 ± 0.19 b	0.91 ± 0.08 b
<i>C. acutatum</i> 25	0.51 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.82 ± 0.07 b	0.91 ± 0.03 b	0.94 ± 0.02 b
<i>Olygoporus</i> sp 5319	0.92 ± 0.04 b	1.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 a	0.84 ± 0.06 b	0.8 ± 0.02 b
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 d	0.78 ± 0.02 b	0.81 ± 0.04 c	0.92 ± 0.02 c
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 c	0.84 ± 0.01b	1.4 ± 0.02 d	1.2 ± 0.01d

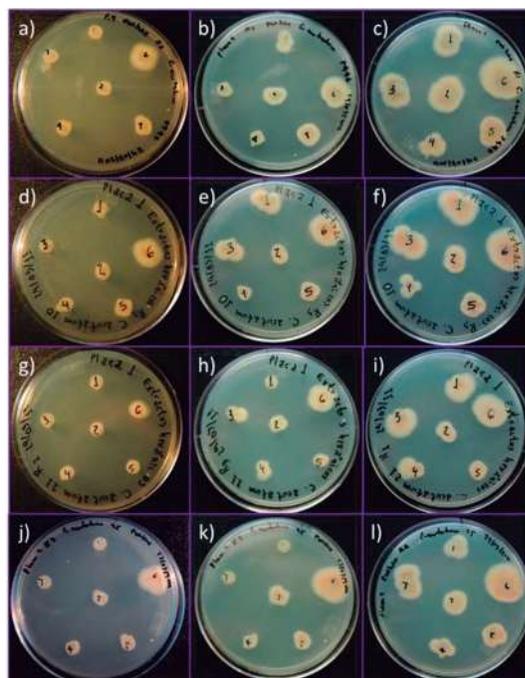


Figura 9. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de *C. coriaria* y *C. platyloba*. *C. acutatum* 5446, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *C. acutatum* 10, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *C. acutatum* 21, g) día 2, h) día 3 e i) día 4 y *C. acutatum* 25, j) día 2, k) día 3 y l) día 4.

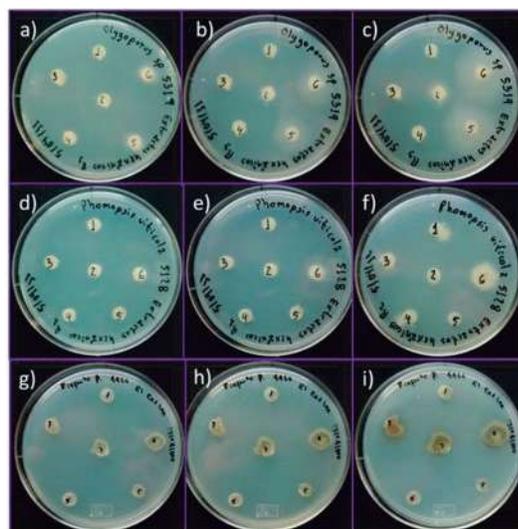


Figura 10. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica de los extractos hexánicos totales de *C. coriaria* y *C. platyloba*. *Olygoporus* sp 5319, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *P. viticola* 5120, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *D. phaseolarum*, g) día 2, h) día 3 e i) día 4.

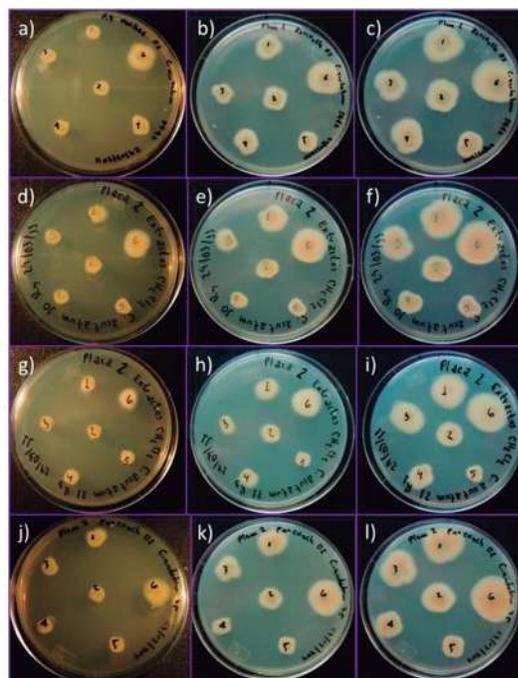


Figura 11. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de *C. coriaria* y *C. platyloba*. *C. acutatum* 5446, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *C. acutatum* 10, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *C. acutatum* 21, g) día 2, h) día 3 e i) día 4 y *C. acutatum* 25, j) día 2, k) día 3 y l) día 4

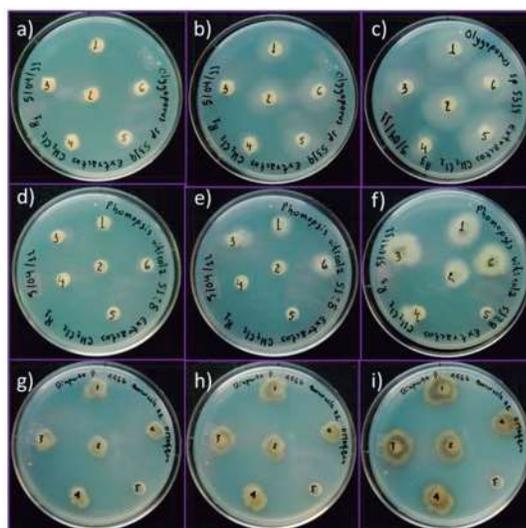


Figura 12. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica de los extractos cloruro metilénicos de *C. coriaria* y *C. platyloba*. *Olygoporus* sp 5319, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *P. viticola* 5120, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *D. phaseolarum*, g) día 2, h) día 3 e i) día 4.

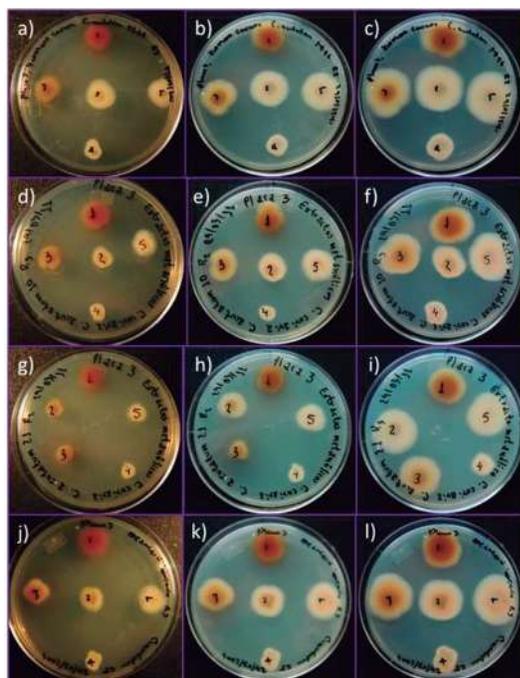


Figura 13. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica del extracto metanólico de *C. coriaria*. *C. acutatum* 5446, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *C. acutatum* 10, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *C. acutatum* 21, g) día 2, h) día 3 e i) día 4 y *C. acutatum* 25, j) día 2, k) día 3 y l) día 4.

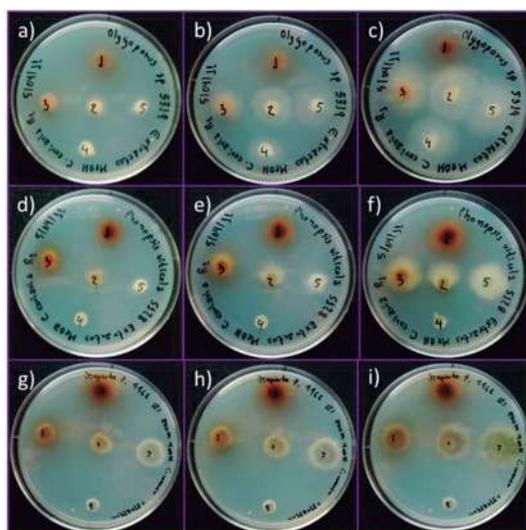


Figura 14. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica del extracto metanólico de *C. coriaria*. *Olygoporus* sp 5319, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *P. viticola* 5120, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *D. phaseolarum*, g) día 2, h) día 3 e i) día 4.

VIII.4.4. Extracto hexánico total de albura de *C. platyloba*

Olygoporus sp 5319 fue sensible al extracto hexánico de albura de *C. platyloba*, mientras que *C. acutatum* 5446, *C. acutatum* 10, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25 no presentaron diferencia significativa respecto del control positivo. En *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum* el extracto hexánico de albura de *C. platyloba* no presentó efecto (**Cuadro 13**).

VIII.4.5. Extracto cloruro metilénico de albura de *C. platyloba*

C. acutatum 5446, *C. acutatum* 10, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25 fueron sensibles al extracto cloruro metilénico de albura. En *Olygoporus* sp 5319 no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos y el Tecto 60[®]. En *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum* se observó un efecto fungistático en el extracto de albura (**Cuadro 14**).

VIII.4.6. Extractos metanólicos de *C. platyloba*

C. acutatum 5446, *C. acutatum* 10, *C. acutatum* 21 y *C. acutatum* 25 fueron insensibles a los extractos metanólicos de albura y duramen. En *Olygoporus* sp 5319 no se encontró diferencia significativa entre los extractos y el Tecto 60[®]. En *D. phaseolarum* los extractos metanólicos estimularon el crecimiento (**Cuadro 15**).

Cuadro 13. Actividad antifúngica del extracto hexánico de albura de *C. platyloba*. Los valores presentados son el promedio del día 4. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO		
	Tecto 60 Control (+)	Etanol Control (-)	Albura <i>C. platyloba</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.56 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0 b	0.57 ± 0.03 a
<i>C. acutatum</i> 10	0.49 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.67 ± 0.08 a
<i>C. acutatum</i> 21	0.52 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.71 ± 0.01 a
<i>C. acutatum</i> 25	0.5 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.57 ± 0.01 a
<i>Olygoporus</i> sp 5319	0.92 ± 0.04 b	1.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 a
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.64 ± 0.06 b
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.54 ± 0.0 b

Cuadro 14. Actividad antifúngica del extracto cloruro metilénico de albura de *C. platyloba*. Los valores presentados son el promedio del día 4. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO		
	Tecto 60 Control (+)	Etanol Control (-)	Albura <i>C. platyloba</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.57 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0 b	0.65 ± 0.03 a
<i>C. acutatum</i> 10	0.49 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.67 ± 0.08 a
<i>C. acutatum</i> 21	0.57 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.77 ± 0.07 a
<i>C. acutatum</i> 25	0.5 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.57 ± 0.02 a
<i>Olygoporus</i> sp 5319	0.92 ± 0.04 a	1.0 ± 0.0 a	0.75 ± 0.10 a
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.66 ± 0.10 b
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	1.2 ± 0.02 b

Cuadro 15. Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de *C. platyloba*. Los valores presentados son el promedio del día 4. Celdas con la misma letra en cada fila no presentan diferencia significativa. Tukey $\alpha = 0.05$

Hongo	ÍNDICE DE CRECIMIENTO			
	Tecto 60 Control (+)	Etanol Control (-)	Duramen <i>C. platyloba</i>	Albura <i>C. platyloba</i>
<i>C. acutatum</i> 5446	0.57 ± 0.02 a	1.0 ± 0.0 b	1.1 ± 0.03 c	0.95 ± 0.01 b
<i>C. acutatum</i> 10	0.57 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	0.94 ± 0.10 b	0.88 ± 0.01 b
<i>C. acutatum</i> 21	0.52 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.98 ± 0.03 b	0.98 ± 0.03 b
<i>C. acutatum</i> 25	0.51 ± 0.01 a	1.0 ± 0.0 b	0.87 ± 0.08 b	0.88 ± 0.08 b
<i>Olygoporus</i> sp 5319	0.92 ± 0.04 b	1.0 ± 0.0 b	0.82 ± 0.07 b	0.94 ± 0.0 b
<i>P. viticola</i> 5120	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 c	0.92 ± 0.01 b	0.89 ± 0.01 b
<i>D. phaseolarum</i>	0.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 b	1.2 ± 0.06 c	1.2 ± 0.02 c

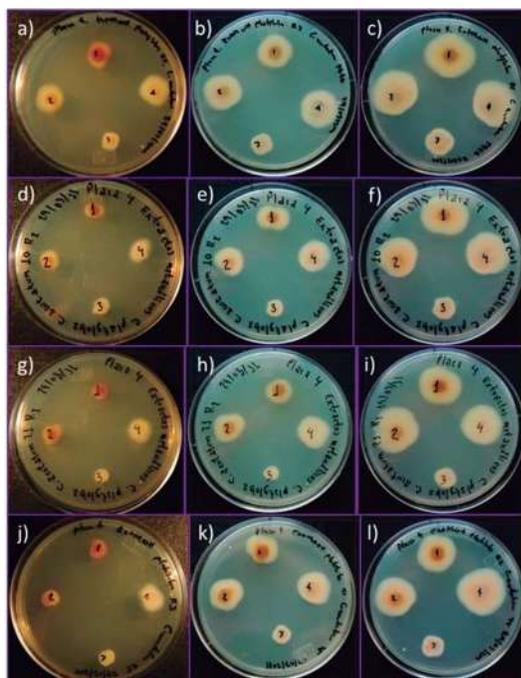


Figura 15. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica del extracto metanólico de *C. platyloba*. *C. acutatum* 5446, a) día 2, b) día 3 y c) día 4. *C. acutatum* 10, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *C. acutatum* 21, g) día 2, h) día 3 e i) día 4 y *C. acutatum* 25, j) día 2, k) día 3 y l) día 4.

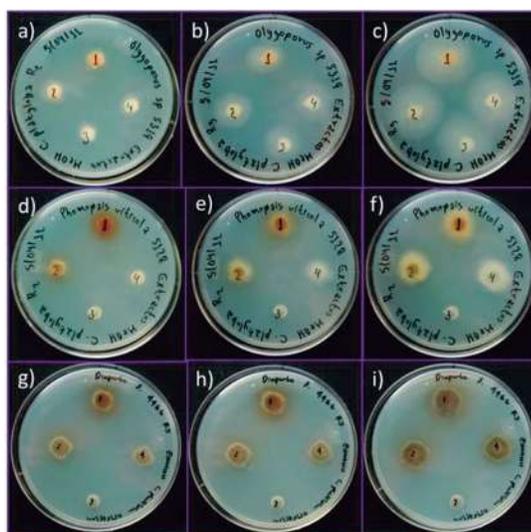


Figura 16. Imágenes ilustrativas del actividad antifúngica del extracto metanólico de *C. platyloba*. *Olygoporus* sp 5319, a) día 2, b) día 3 y c) día 4; *P. viticola* 5120, d) día 2, e) día 3 y f) día 4. *D. phaseolarum*, g) día 2, h) día 3 e i) día 4.

IX. DISCUSIÓN

Los aceites esenciales presentaron diferencia en cuanto a su composición química, ya que dependió de la especie vegetal y órgano. *C. coriaria* presentó un componente común en los tres órganos (corteza, albura, duramen) el n-butil octadecanoato, el cual también se identificó en corteza y albura de *C. platyloba* con un 6.81 y 1 % respectivamente. Los compuestos químicos más abundantes para los aceites esenciales de *C. coriaria* son: escualeno con un 22.01 % en corteza, *cis,cis,cis*-7, 10,13-hexadecatrienal con 4.2 % en albura y (*E*)-6,10-dimetil-5, 9-undecandien-2-ona con 5.35 % en duramen. León Hernández en el 2010, reporta el efecto citotóxico que ejerce el escualeno sobre diferentes líneas celulares y *Artemia salina*. En *C. platyloba* los compuestos químicos más abundantes fueron el 2, 4-bis (1, 1-dimetietil) fenol con 28.68 % en corteza, 1,2,4-trimetilbenceno en albura con 20.15 % y Kaur-16-eno con 19.2 % en duramen.

Ninguno de los aceites esenciales presentó actividad inhibitoria sobre la germinación de esporas del hongo fitopatógeno *C. lindemuthianum*, al contrario los aceites esenciales fueron estimulantes de la germinación, lo cual nos indica que alguno de los componentes químicos presentes en *C. coriaria* y *C. platyloba* tienen la propiedad de ser nutrientes o inductores de la germinación del hongo.

En los hongos fitopatógenos evaluados causantes de la pudrición peduncular en aguacate se utilizó el fungicida comercial Tecto 60[®], el cual mostró efectividad contra *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum* con un IC = 0.0, lo cual nos indica que tienen efecto fungicida contra éstas dos cepas. Los extractos hexánicos de *C. coriaria* muestran mayor actividad al momento de inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos, por lo cual se infiere que los componentes no polares presentes en los extractos hexánicos son más potentes.

Para inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos a las 72 h, los extractos hexánicos presentaron el siguiente comportamiento: para el efecto fungicida el extracto hexánico de duramen de *C. coriaria* fue activo contra tres de los siete hongos evaluados. Este efecto se ve favorecido por la abundancia de los ácidos grasos presentes en el extracto: ácido *n*-hexadecanoico y el ácido oleico. Estudios llevados a cabo en extractos de frutos maduros de un arbusto silvestre de arándano (Cipollini y Stiles, 1992a, 1992b y 1993), indicaron que los compuestos antifúngicos principales en la fruta fueron solubles en agua, los cuales son de tipo fenol y ácido graso. Los autores también observaron un aumento en la actividad antifúngica de los extractos en presencia de ácidos orgánicos (1 % de ácido cítrico) sugiriendo que la actividad se debe a la interacción entre los compuestos fenólicos de los extractos y los ácidos grasos.

Los extractos cloruro metilénicos presentaron actividad antifúngica mínima. Sin embargo, los IC del extracto de albura fueron menores a los observados en los extractos de corteza y duramen, se infiere que

está disminución en los valores del IC sea debida a la presencia del compuesto fenólico 3,5-bis(1,1-dimetil)-fenol. Wharton y Julian en 1996, reportaron sobre la infección de cultivos de arándano resistentes a *C. acutatum* que los compuestos fenólicos se acumulan en las células infectadas y rodeaban las hifas del hongo en un proceso similar al observado en otro tipo de interacción hospedero resistente-*Colletotrichum*. La posición y el número de sustituyentes hidroxilo (OH) en el anillo parece estar relacionada directamente con la toxicidad frente a los microorganismos por lo que se infiere que un aumento en la hidroxilación se liga a una mayor toxicidad (Geissman, 1963). Los extractos cloruro metilénicos fueron estimulantes de crecimiento el cual fue favorecido por el tipo de extracto siendo el extracto cloruro metilénico de duramen de *C. coriaria* el más activo, ya que propició el crecimiento de cinco de los siete hongos evaluados, los cuales presentaron un IC > 1. El extracto cloruro metilénico de corteza estimuló el crecimiento de tres de los siete hongos. Con esto inferimos que los extractos cloruro metilénicos tienen componentes de polaridad intermedia que se desempeñan como nutrientes o que son intermediarios de interrumpir la latencia de expresión fungal. Los extractos metanólicos de *C. coriaria* y *C. platyloba* presentan actividad fungistática en cinco de los siete hongos evaluados y favorecen el crecimiento de *P. viticola* 5120 y *D. phaseolarum*.

El uso constante y manejo poco apegado a las normas de sanidad, ha originado resistencia en los microorganismos que deterioran cultivos de importancia agrícola. Espinoza en el 2010, observó la resistencia *in vitro* de *C. acutatum*, *Olygoporus* sp, *P. viticola* y *F. oxysporum* a los fungicidas de uso comercial como: Bankit[®], Benlate[®], Cu₂SO₄[®] y Tecto 60[®] registrando índices de crecimiento superiores al 50 % y el efecto antifúngico de los extractos hexánicos, cloruro metilénicos y metanólicos de flor, hoja, fruto y tallo de *C. coriaria* y *C. platyloba* (Espinoza, 2010). En el presente trabajo se observó el efecto antifúngico de los extractos orgánicos *in vitro* de corteza, albura y duramen de *C. coriaria* y *C. platyloba*, con índices de crecimiento menores al 50 % mostrando tener mayor efectividad que los fungicidas de uso comercial. Con el presente trabajo, iniciado por Espinoza, se concluye el escrutinio antifúngico de *C. coriaria* y *C. platyloba* lo cual nos sugiere que contienen metabolitos secundarios con actividad antifúngica. Por lo que se debe considerar el estudio fitoquímico de los compuestos responsables de efecto antifúngico observado.

X. CONCLUSIÓN

Los aceites esenciales de madera de *C. coriaria* y *C. platyloba* difieren en su composición química y presentan actividad antifúngica sobre hongos fitopatógenos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- ✚ Adam K. P., Thiel R., Zapp J., Becker H. 1998. Involvement of the mevalonic acid pathway and the glyceraldehyde-pyruvate pathway in terpenoid biosynthesis of the liverworts *Ricciocarpos natans* and *Conocephalum conicum*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 354: 181-187.
- ✚ Badei A. Z. M., El-Akel A. T. M., Morsi H. H., Baruah P., Sharma R. K., Singh R. S., Ghosh A. 1996. Fungicidal activity of some naturally occurring essential oils against *Fusarium moniliforme*. *Journal Essential Oil Research*. 8: 411-412.
- ✚ Bartnicki-García S., Nickerson W. J. 1962. Nutrition, growth and morphogenesis of *Mucor rouxii*. *Journal of Bacteriology*. 84: 841-858.
- ✚ Barreto A. G., Velázquez P. B., Peña M. Y., Rodríguez T. H. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos de *Eucalyptus chirriadora* Hook y *Eucalyptus saligna* como posibles antisépticos mamarios. *Revista de Productos Animales*. 18(2): 135-140.
- ✚ Bishop C. D., Thornton I. B. 1997. Evaluation of the antifungal activity of the essential oil of *Monarda citriodora* var. *citriodora* and *Melaleuca alternifolia* on post-harvest pathogens. *Journal Essential Oils Research*. 9: 77-82.
- ✚ Cadby P. A., Troy W. R., Middleton J. D., Matthias G. H. V. 2002. Fragrances: are they safe? *Flavor Fragrances Journal*. 17: 472-477.
- ✚ Cipollini M. L., Stiles E. W. 1992a. Antifungal activity of ripe ericaceous fruits-phenolic-acid interactions and palatability for dispersers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 20: 501-514.
- ✚ Cipollini M. L., Stiles E. W. 1992b. Relative risks of fungal rot for temperate ericaceous fruits-effects of seasonal-variation on selection for chemical defense. *Canadian Journal of Botany*. 70: 1868-1877.
- ✚ Cipollini M. L., Stiles E. W. 1993. Fruit rot, antifungal defense and palatability of fleshy fruits for frugivorous birds. *Ecology*. 74: 751-762.
- ✚ Cordero J., Boshier D., Barrance A. 2003. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Ed. Instituto Forestal de Oxford Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), El Salvador. ISBN: 0-85074-161-0.
- ✚ Cowann M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbial Review*. 12: 564-582.
- ✚ Choi Hohg-Kyu, Luckow M. A., Doyle J. y Cook D. R. 2006. Development of nuclear gene-derived molecular markers linked to legume genetic maps. *Molecular Genomics*. 276: 56-70.
- ✚ Espinoza M. R. M. 2010. Escrutinio del efecto antifúngico de *C. coriaria* y *C. platyloba* sobre patógenos que causan pudrición de pedúnculo en el fruto de aguacate. Tesis de maestría. UMSNH.

- ✚ Farag R. S., Daw Z. Y., Abo-Raya S. H. 1989. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxin in a synthetic medium. *Journal Food Science*. 54: 74-76.
- ✚ Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D., GUO Z. 1985. Medicinal plant in therapy. *Bull World Health*. 63: 965-981.
- ✚ García S. E. 2008. Escrutinio de la actividad microbica de *Eupatorium* spp. Tesis de maestría. UMSNH.
- ✚ Geissman T. A. 1963. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. In M. Florkin and E. H. Stotz. *Pyrrrole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents*. Elsevier, New York, N. Y. 9: 265.
- ✚ González G. J. C., Madrigal S. X., Ayala B. A., Juárez C. A., Gutiérrez V. E. 2006. Especies arbóreas de uso múltiple para la ganadería en la región Tierra Caliente del Estado de Michoacán, México. *Livestock Research for Rural Development*. 8: 18.
- ✚ Guillén M. D., Cabo N., Burillo, J. 1996. Characterization of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. *Journal Science of Food Agriculture*. 70: 359-363.
- ✚ Ikan R. 1991. *Natural Products. A laboratory guide*. Second Edition. Academic Press. pp: 360.
- ✚ Inouye S., Uchida K. 2006. Volatile composition and vapour activity against *Trichophyton mentagrophytes* of 36 aromatic herbs cultivated in Chichibu district in Japan. *The International Journal of Aromatherapy*. 16: 159-168.
- ✚ Keeler R. F., Tu A. T. 1991. *Toxicology of plant and fungal compounds*. Marcel Dekker, N. Y. 6: 665.
- ✚ León H. A. 2010. Actividad citotóxica de los extractos de *Eupatorium cardiophillum* (B.L: Rob). Tesis de maestría. UMSNH.
- ✚ Maisch J. M. 1985. *Materia Medica of the New Mexican*. Pharmacopeia- American Journal of Pharmacy. 57: 9.
- ✚ Maruzzella J. C., Balter J. 1959. The action of essential oils on phytopathogenic fungi. *Plant Disease*. 43: 1143-1147.
- ✚ Mesa A. C., Bueno J. G., Betancur L. A. 2004. Productos naturales con actividad antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*. 17: 325-331.
- ✚ Muñoz F. 2002. *Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, cultivo y procesado*. 4ª Reimpresión. Ediciones Mundi-Prensa: Madrid, España. pp. 453.
- ✚ Odds F. C., Brown J. P., Gow A. R. 2003. Antifungal agents: mechanisms of action trends in *Microbiology*. 11: 6.
- ✚ Osbourn A. E. 1999. Phytoprotectants and fungal pathogens: A commentary fungal genetbiol. 26: 163-168.
- ✚ Pamatz B. T. 2010. Actividad citotóxica de *Caesalpinia coriaria* y *C. platyloba*. Tesis de maestría. UMSNH.

- ✚ Park M. J., Gwaka, Yang K. W., Kim E. B., Jeung J. W., Chang I. G., Choi A. 2009. Effect of citral, eugenol, nerolidol and α -terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia*. 80: 290-296.
- ✚ Peter K. V. 2004. *Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing Limited: London, England. pp. 19-25.
- ✚ Ramírez L. C. B. 2009. Protección de la madera de *Quercus rugosa* Née y *Pinus sp.* con extractos de *Eupatorium cardiophyllum* B. L. Rob. Tesis de maestría. UMSNH.
- ✚ Rogers J. A. 1998. Aceites Esenciales. En: *Enciclopedia de Tecnología Química* (Ed. Kirk-Othmer) Ed. Limusa S.A. México. pp. 9.
- ✚ Román M. M. L., Mora S. A., Ochoa R. H. 2006. Especies forestales con diversidad de usos en un bosque tropical caducifolio de la comunidad Indígena de Tomatlán, Jalisco, México. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*. pp. 199.
- ✚ Rzedowski G. C., J. Rzedowski. 2005. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2ª ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. pp. 251.
- ✚ Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. 91: 621-632.
- ✚ Salvador H. J. L. 2010. Estudio químico de aceites esenciales de dos especies de *Caesalpinia*. Tesis de maestría. UMSNH.
- ✚ Schelz Z., Molnar J., Hohmann J. 2006. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. 77: 279-285.
- ✚ Sharma R. C., Vir D. 1986. Post-harvest diseases of grapes and studies on their control with benzimidazole derivatives and other fungicides. *Pesticides (Bombay)*. 20: 14-15.
- ✚ Sosa R. E., Pérez R. D., Ortega R. L., Zapata B. G. 2004. Evaluación del potencial forrajero de árboles y arbustos tropicales para la alimentación de ovinos. *Técnica Pecuaria en México*. 42 (2): 129-144.
- ✚ Sotuyo, S., Lewis G. P. 2007. A new species of *Caesalpinia* from the Río Balsas Depression, México, and an updated taxonomic circumscription of the *Caesalpinia hintonii* complex (Leguminosae: Caesalpinioideae: Caesalpinieae: Poincianella Group). *Brittonia*. 59 (1): 33-36.
- ✚ Sponsel V. M. 1995. The biosynthesis and metabolism of gibberellins in higher plants. In Davies P. J. *Plant hormones*. Kluwer Academic Publishers. Boston. pp. 66-97.
- ✚ Tewari S. N. 1990. Toxic effect of few botanicals on three fungal pathogens of rice. In: Chari M. S., Ramprasad G. *Proceedings of Symposium Botanical Pesticides in IPM*, Raimundry, India. pp. 397-403.
- ✚ Verpoorte R. 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today*. 3: 232-238.

- ✚ Viglierchio M., Toribio M., Alonso G., Bruni M., Fernández M., Ferreyra M., Toso R. 2000. Revelamiento fitoquímico de *Caesalpinia gilliesii* (Leguminosae) y de otras especies de *Caesalpinias*. Anuario de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Pampa. pp. 34-46.
- ✚ Villaseñor J. L., Espinoza G. F. J. 2004. The alien flowering plants of México. Diversity and Distribution. 10: 133-123.
- ✚ Wharton P. S., Julian A. M. 1996. A cytological study of compatible and incompatible interactions between *Sorghum bicolor* and *Colletotrichum sublinealum*. New Phytologist. 134: 25-34.
- ✚ Wright J. 1999. Essential oils. En: Food Flavorings (ed. P.R. Ashurst). 3ª edition. Ed. Aspen Publishers, Inc. Maryland. Pp. 1-38.

XII. DIRECCIONES URL.

1. Comisión Forestal de Michoacán (COFOM). Bosques y Selvas de Michoacán. Año 4 / No. 7 / Morelia, Michoacán / Enero – Marzo 2007.
www.ccmss.org.mx/documentos/manejo_forestal_en_michoacan.pdf.
2. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). Nota informativa No. 5. Inventarios forestales nacionales. Mayo-2006.
www.ccmss.org.mx/.../nota_info_5_inventarios_forestales_nacionales.dc
3. http://www.mx-nr-crt-p2-es-biodiversidad_michoacan.pdf.
4. http://www.pcmg-texas.org/pride_of_barbados.pdf.
5. <http://www.mapasmexico.net/mapa-michoacan.html>