

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15	
			VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN			FECHA	03/04/2017
				PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ		APROBÓ	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad		Líder de Calidad	

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): YELI YESSSENIA LEON WILCHEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR: JOSE ANTONIO GUERRERO ANALCO

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DE *Cestrum nocturnum* (SOLANACEAE) PARA LA BÚSQUEDA DE COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS ACTIVOS CONTRA LOS HONGOS FITOPATÓGENOS *Fusarium kuroshium* sp. NOV. Y *Fusarium solani* (MART.) SACC.

La planta *Cestrum nocturnum*, especie recolectada en la reserva del SBN de Xalapa, Veracruz, México. Esta especie se evaluó e identificó con potencial biocida (antifúngica) contra el complejo ambrosial *Ewallacea kuroshio-Fusarium kuroshium*, el cual es una asociación simbiótica que ocasionan la enfermedad conocida como “muerte regresiva por *Fusarium*” en más de 138 especies vegetales hospederas, entre las que se encuentra especies de importancia económica como el aguacate (*Persea americana* Mill). Para esto, en la presente investigación, se evaluó en una primera etapa la acción antifúngica del extracto crudo total y fracciones (primarias y secundarias) de *C. nocturnum* mediante ensayos de inhibición de crecimiento micelial contra el hongo modelo *Fusarium solani*, y en una segunda etapa contra el fitopatógeno *F. kuroshium*, bajo condiciones de bioseguridad. Observando un efecto del 100% de inhibición contra *F. kuroshium*, identificándola mediante análisis de resonancia magnética nuclear uni y bi-dimensional a la saponina esteroideal 17 α -diol-3-O- α -L-ramnopiranosil-(1-4)- α -L-ramnopiranosil-(1-4)-[α -L-ramnopiranosil-(1-2)]- β -D-glucopiranosido, comúnmente llamada penogenina tetraglucósido.

PALABRAS CLAVES: PRODUCTOS NATURALES BIOACTIVOS, ANTIFÚNGICO, *Cestrum nocturnum*, PENOGENINA TETRAGLUCÓSIDO, *Fusarium kuroshium*.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 152 PLANOS: __ ILUSTRACIONES: _____ CD ROOM: __

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DE *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) PARA LA
BÚSQUEDA DE COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS ACTIVOS CONTRA LOS HONGOS
FITOPATÓGENOS *Fusarium kuroshium* SP. NOV. Y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.

YELI YESSENIA LEÓN WILCHEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA
2020

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DE *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) PARA LA
BÚSQUEDA DE COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS ACTIVOS CONTRA LOS HONGOS
FITOPATÓGENOS *Fusarium kuroshium* SP. NOV. Y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.

YELI YESSENIA LEÓN WILCHEZ

DIRECTOR

DR. JOSÉ ANTONIO GUERRERO ANALCO
RED DE ESTUDIOS MOLECULARES AVANZADOS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA A.C.-CLÚSTER

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA**

2020

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 11 DE DICIEMBRE DE 2020

HORA: 03:00 P.M.

LUGAR: CUCUTA, NORTE DE SANTANDER – EVALUACION VIRTUAL

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "Estudio químico biodirigido de *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) para la búsqueda de compuestos antifúngicos activos contra los hongos fitopatógenos *Fusarium kuroshium* sp. nov. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc."

MODALIDAD: INVESTIGACION

JURADO: LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO
ALINA KATIL SIGARROA RIECHE
EDWIN JAVIER DUARTE GOMEZ

DIRECTOR: JOSE ANTONIO GUERRERO ANALCO

ENTIDAD: A.C – INECOL, Xalapa – México.

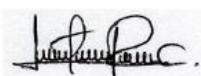
NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Yeli Yessenia León Wilchez	1611037	4.7

OBSERVACIONES: MERITORIO

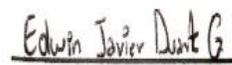
FIRMA DE LOS JURADOS



Alina Katil Sigarroa Rieche



Lilian Trinidad Ramirez Caicedo



Edwin Javier Duarte Gómez

Vo. Bo Coordinador Comité Curricular _____



Dedicatoria

¡Porque pa' lante es pa' allá!

Primeramente a Dios, por permitirme llevar a cabo esta meta, en compañía de amigos y familiares que creyeron en mis capacidades, completando mis estudios universitarios, por permitirme conocer otro bello lugar del mundo como lo es México.

A mis padres, Orlando León y Mariela Wilchez, por darme amor, valores y enseñarme que en la vida uno puede lograr lo que se proponga.

A mis hermanas Karen León, que aunque está en el cielo es un ángel que me cuida y me guía en el camino y Diana León que incondicionalmente me brinda su confianza, amistad y consejos.

A mis amigos, que siempre están ahí dándome consejos, apoyándome, compartiendo momentos de angustia, alegrías y tristezas.

A todas aquellas personas que aunque no están en mí día a día, han aportado cosas positivas en mi formación académica y personal.

Agradecimientos

Al Dr. José Antonio Guerrero-Analco, Investigador Titular responsable del área de Química de Productos Naturales (QPN) del Instituto de Ecología A.C. (INECOL, Veracruz, México), por toda su enseñanza en el área de la química y los productos naturales, y la paciencia en mi formación académica.

Al Dr. Juan Luis Monribot Villanueva, técnico del laboratorio de QPN y Química Bioanalítica del INECOL, por su apoyo y asesoría en los análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.

Al proyecto FORDECyT #292399 titulado "Generación de estrategias científico-tecnológicas con un enfoque multidisciplinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México", por el apoyo para la adquisición de materiales científicos que fueron indispensables para realizar este trabajo de tesis.

A la Dra. Feliza Ramón Farías, por recomendarme el Instituto de Ecología A.C., para realizar mis prácticas y tesis de grado, por todas sus atenciones y amistad, por el apoyo en momentos difíciles y ayudarme a identificar taxonómicamente la planta de estudio *Cestrum nocturnum*.

A la M. C. Laura Stefany Licona Velázquez, por el asesoramiento en general en el laboratorio de QPN de INECOL, durante la realización del trabajo práctico y escrito, por su paciencia y amistad.

Al M. C. Israel Bonilla Landa, técnico del laboratorio de Química Orgánica del INECOL por el apoyo con los análisis de Resonancia Magnética Nuclear y elucidación estructural del compuesto identificado como penogenina tetraglucósido.

A la Dra. Ofelia Ferrera Rodríguez técnico titular del laboratorio de Microbiología Ambiental y al M. en C. José Benjamín Rodríguez Haas técnico titular del laboratorio de Biología Molecular, ambos adscritos a la Red de Estudios Moleculares Avanzados (REMAV), por su apoyo en la capacitación del uso de equipos de sus respectivos laboratorios, así como a los investigadores titulares responsables de esas áreas.

A la Dra. Mónica Ramírez Vázquez Investigadora Asociada y coordinadora de la Unidad de Microscopía Avanzada y a la Ing. Agrón. Olinda Elizabeth Velázquez López técnico titular de microscopía óptica avanzada del INECOL, por su apoyo en el análisis de microscopia confocal y la Biol. Greta H. Rosas Saito, por su apoyo en el análisis de microscopia electrónica de barrido sobre las hifas de *Fusarium kuroshium*.

A la Dra. Claudia Anahí Pérez Torres, el Dr. Enrique Ibarra Laclette, al técnico de laboratorio Lic. BQ. Héctor Fernando Velazco León y a la M. en C. Eva García Ilizaliturri, del Laboratorio de Genómica y Transcriptómica de la REMAV, por prestarme su ayuda con el equipo de esterilización (autoclave), la amistad, consejos y asesoría en la redacción de este trabajo de grado.

Al personal del Herbario XAL de INECOL, al curador Dr. Sergio Avendaño Reyes y al técnico académico Biól. Carlos Manuel Durán Espinosa, por la determinación taxonómica de la planta *Cestrum nocturnum*.

A todo el personal académico y administrativo del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) dependiente del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA, Gobierno de

México, México), por las facilidades otorgadas para la realización en sus instalaciones de los bioensayos sobre el hongo fitopatógeno cuarentenado *Fusarium kuroshium*.

Al Lic. Rubey Baza Román, Director de Administración del INECOL, y al Ing. Francisco Mendoza Fernández, Coordinador del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic® del INECOL, por permitir mi alojamiento en las instalaciones del INECOL - Campus 3 durante el tiempo de desarrollo del proyecto.

A mis compañeros del laboratorio de QPN, por recibirme con tanto amor y aceptación, en especial a Marian Cortázar, Marycruz Álvarez, Efrain Pucheta, Jackson Argüello, Rafael Ronzón, Lizzeth Murrieta, Antonio Martínez y el Dr. Alberto Velázquez, por todo su apoyo y consejos en el proyecto.

Al M. C. Dennis Adrián Infante Rodríguez, Q.F.B Efrain Pucheta y I.B. Celeste Reyes, por todo el apoyo y asesoramiento con los análisis estadísticos.

Al personal de la Oficina de Relaciones Internacionales y la Facultad de Ciencias Agrarias y del Medio Ambiente, de la Universidad Francisco de Paula Santander, por el apoyo económico otorgado y vivencias académicas.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales y Química Bioanalítica, de la REMAV del INECOL A. C., ubicados en el Edificio B del Clúster BioMimic®, Campus 3 del INECOL, en la ciudad de Xalapa Enríquez, Estado de Veracruz, México, bajo la dirección del Dr. José Antonio Guerrero Analco, Investigador Titular del Área, y la asesoría técnica del Dr. Juan Luis Monribot Villanueva y la M. en C. Laura Stefany Licon Velázquez.

Esta tesis se realizó en el marco del proyecto del Fondo Institucional de Fomento Regional para el Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación (FORDECyT) #292399, titulado: "Generación de estrategias científico-tecnológicas con un enfoque multidisciplinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México".

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	30
1.El problema	32
1.1. Título	32
1.2. Planteamiento del problema	32
1.3. Formulación del problema	34
1.4. Justificación	34
1.5. Objetivos	35
1.5.1. Objetivo general	35
1.5.2. Objetivos específicos	35
1.6. Delimitación	36
1.6.1. Espacial	36
1.6.2. Temporal	37
1.6.3. Conceptual	37
2. Marco referencial	38
2.1. Antecedentes	38
2.1.1. Antecedentes bibliográficos	38
2.2. Marco teórico	39
2.2.1. Escarabajos ambrosiales	40
2.2.2. Complejo ambrosial	40
2.2.3. Hongos fitopatógenos	41

2.2.4. Hongos del género <i>Fusarium</i>	42
2.2.5. La bioprospección como estrategia de control biológico contra fitopatógenos	46
2.2.6. Bosque mesófilo de montaña	47
2.2.7. Solanáceas	48
2.2.8. Metabolismo primario y secundario	62
2.3. Marco conceptual	64
2.3.1. Técnicas para el estudio fitoquímico o Análisis fitoquímico	64
2.3.2. Identificación de fenoles	65
2.4. Marco legal	67
2.4.1. Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente (LGEEPA)	67
2.4.2. Ley general para la gestión integral de residuos (LGPGIR)	67
2.4.3. Ley Federal de Sanidad Vegetal (LFSV)	67
2.4.4. Ley General de Salud (LGS)	67
2.4.5. Normas oficiales mexicanas	68
3. Metodología	71
3.1. Tipo de investigación	71
3.2. Población y muestra	71
3.2.1. Población	71
3.2.2. Muestra	71
3.3. Hipótesis	72
3.4. Variables	72
3.5. Estudio fitoquímico de <i>Cestrum nocturnum</i> L.	72

3.5.1. Recolección del material vegetal	72
3.5.2. Preparación del ECCN.	73
3.5.3. Análisis dirigido de compuestos fenólicos mediante UPLC-MS-QqQ del ECCN	73
3.5.4. Fraccionamiento primario del ECCN.	75
3.5.5. Fraccionamiento secundario de la fracción ECCN-F4	76
3.5.6. Cromatografía en capa fina	77
3.6. Bioensayos	78
3.7. Análisis de datos	80
3.8. Análisis microscópicos	81
3.8.1. Microscopia confocal	81
3.8.2. Microscopia electrónica de barrido	81
3.9. Análisis espectroscópicos del compuesto puro aislado	82
4.Resultados y discusión	83
4.1. Estudio fitoquímico de <i>C. nocturnum</i> L. Y bioensayos.	83
4.1.1. Colección del material vegetal y preparación del ECCN.	83
4.1.2. Análisis metabólicomico dirigido de compuestos fenólicos mediante UPLC-MS-QqQ del ECCN	85
4.1.3. Fraccionamiento primario del ECCN.	87
4.1.4. Fraccionamiento secundario de la fracción ECCN-F4	92
4.2. Análisis microscópicos	102
4.3. Caracterización e identificación de la Penogenina tetraglucósido	106
Conclusiones	116

Recomendaciones	117
Bibliografía	118
Anexos	140