Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Actividad antifúngica de extractos vegetales, para el control de *Fusarium oxysporum*, en la pudrición de raíz en *Picea engelmanni Parry* var. *mexicana*

Por:
Ing. Patricia Fernández Guzmán

26 de Octubre de 2017

COAUTORES

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Dra. Diana Jasso Cantú

Dr. Roberto Arredondo Valdés

Dr. Francisco Castillo Reyes

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

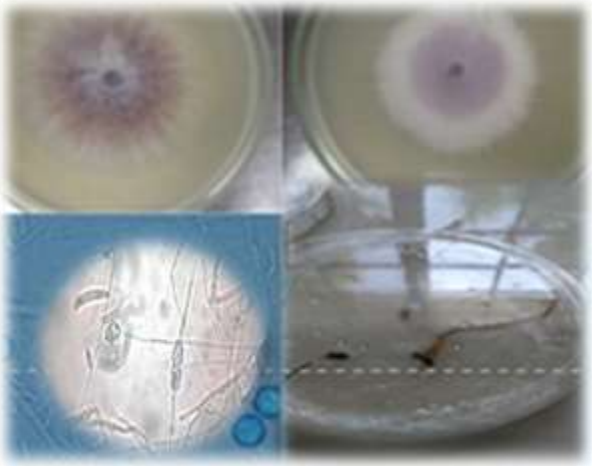
INTRODUCCIÓN

Picea engelmannii Parry Var. mexicana (Martínez) Silba

- Especie endémica de México
- Rara, relicto de la última glaciación
- Distribución restringida
- 48,527 individuos totales
- Peligro de extinción en la NOM (059)

Flores *et al*., 2005; Ledig *et al*.,2002; Martínez, 1963

Pudrición de raíz por *Fusarium oxysporum*.



- Falta de germinación
- Pudrición en semilla
- Pérdida de 60% o más plántulas en invernadero

Cibrian *et al*., 2001; García *et al.,* 2007; Roldan, 2008.

Control químico

- Surgimiento de poblaciones de plagas más agresivas y resistentes
- Desequilibrio ambiental
- Potencialmente dañinos para humano.

(cáncer, leucemia en niños y defectos de nacimiento)

Eerden ,1980; Lampkin, 2001;FAO 2002

Extractos vegetales

- Propiedades antifúngicas
- Biodegradables
- Amigables con el ambiente
- No provocan daños a la salud

D Rodríguez et al., 2011 y Hernández *et al*., 2007

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar extractos vegetales, para control de *Fusarium oxysporum*; en la pudrición de raíz en *Picea engelmannii*.

Objetivos específicos

- Identificar taxonómicamente las especies de *Fusarium*, asociados a la pudrición de raíz de *Picea engelmannii*

- Evaluar los extractos de *Larrea tridentata*, *Agave lechuguilla*, *Jatropha dioica, Lippia graveolens* y *Carya illinoinensis* , para el control de la pudrición de raíz de *Picea engelmannii*, "*in vitro* e *in vivo*"

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

UAAAN
Departamento de Parasitología

Aislamiento y purificación

Muestreos

Laboratorio de fitopatología

Aislamiento y purificación
(cultivos monosporicos)

Identificación microscópica

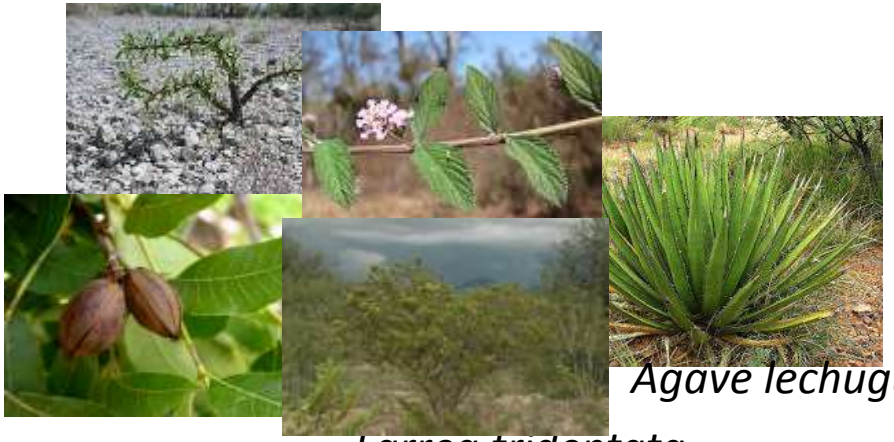
Postulados de Koch

(Leslie y Summerell,2006)

Recolección y pulverización de plantas para extractos

General Cepeda, Coahuila.

Jatropha dioca *Lippia graveolens*



Agave lechuguilla

Carya illionensis *Larrea tridentata*

Lavado

Secado

Pulverizado

Almacenamiento

Nielsen,2003; Ruiz *et al.,* 2010

Preparación de extractos de plantas

Extracción H_2O

Fitoquímicos presentes

IKA HB10 DIGITAL

Fenoles
Flavonoides
Actividad antioxidante

Extracción ETOH.

Shami *et al.*, 2003; Tiwari *et al.*, 2011 y Reyes *et al.*, 2015.

Ensayos *in –vitro*(microdilución en placa)

CONTROLES			CONCENTRACIONES ESTRACTOS DE + a -								
			1000	500	250	125	62.5	31.2	15.62	7.81	3.9
Caldo + Revelador	Caldo + Revelador + *Fusarium oxysporum*	Caldo + revelador + Solvente + *Fusarium oxysporum*	*Larrea tridentata* hoja								
			Agave lechuguilla hoja								
			Agave lechuguilla raíz								
			Jatropha dioica raíz								
			Jatropha dioica tallo								
			Carya illinoinensis ruezno								
			Lippia graveolens hoja								
			Lippia graveolens tallo								

Incubación 48hrs.

Lecturas Espectrofotómetro 490nm

CI

- $C_{Fungicida}$
- $C_{Fungistatica}$
- CI_{50}
- % inhibición

% de crecimiento= (A-B/C)(100)

% de inhibición=100-% de crecimiento

A=absorbancia del trtamineto

B=absorbancia testigo negativo

C=testigo positivo

(Eloff ,1998;Motsei., 2003 y Masoko *et al.,* 2005.

Ensayos *in-vivo (*tratamientos en semilla)

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	UNIDAD EXPERIMENTAL	DISEÑO
7 ***Lippia graveolens* talllo**(0.01g-10ml) ***Agave lechuguilla* hoja**(0.01g-10ml) ***Agave lechuguilla* raiz**(0.01g-10ml) ***Larrea tridentata* hoja**(0.01g-10ml) **Mezcla** (0.0025g-10ml) **Benomil** (1g-1l)(0.01g-10ml) **Control (agua destilda)**	**4**	**8 SEMILLAS**	**Completamente al azar**

% incidencia

$$= \frac{numero\ de\ semillas\ \ afectadas}{numero\ \ de\ semillas\ totales} X\ 100$$

% de germinación

$$= \frac{numero\ de\ plantas\ emergidas\ al\ dia\ 15}{numero\ total\ de\ semillas\ sembradas} X\ 100$$

Análisis de datos:
Comparación múltiple (Tukey) con un intervalo de 95% de confianza, programa SAS versión 9.1

RESULTADOS

se Identificó taxonómicamente a *Fusarium oxysporum*, asociado a la pudrición de raíz en *Picea engelmanii*

Fusarium oxysporum

El micelio del hongo es de crecimiento rápido y de color blanco, con aspecto algodonoso con el tiempo se torna de color violeta, púrpura.

- *Fusarium oxysporum*
- Microconidias sin septos, ovales se producen falsas cabezas
- Macroconidias ligeramente en forma de hoz con tres septos
- Clamidiosporas solas o en pares

Obtención de extractos

Solvente ETOH y H_2O

- *Larrea tridentata* (Hoja)
- *Agave lechuguilla (*Raíz y hoja)
- *Jatropha dioica* (Tallo y raíz)
- *Carya illinoinensis* (Ruezno)
- *Lippia graveolens* (Hoja y tallo)

FITOQUIMICOS PRESENTES EN EXTRACTOS ETOH

Extractos ETOH/Fitoquimicos	*Larrea tridentata hoja*	*Agave lechuguilla hoja*	*Agave lechuguilla* raíz	*Jatropha dioica* raíz	*Jatropha dioica* tallo	*Carya illinoinensis* ruezno	*Lippia graveolens* hoja	*Lippia graveolens* tallo
Alcaloides	+	-	-	-	-	+	-	-
Carbohidratos	-	+	-	-	+	-	-	-
Flavonoides	+	-	-	-	+	+	+	+
Glicósidos cianógenos	+	-	-	-	+	+	-	-
Azucares reductores	+	+	+	-	+	+	+	+
Saponinas	+	+	+	+	+	+	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	+	-	-	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	-	-	-	-	+	+	+
Purinas	-	-	-	+	+	+	-	-
Carotenoides	+	-	-	-	+	+	-	+

FITOQUIMICOS PRESENTES EN EXTRACTOS H_20

COMPONENTES QUIMICOS DE EXTRACTOS ACUOSOS

Extractos Acuosos/ FItoquímicos	*Larrea tridentata* hoja	*Agave lechuguilla* hoja	*Agave lechuguilla* raíz	*Jatropha dioica* raíz	*Jatropha dioica* tallo	*Carya illinoinensis* ruezno	*Lippia graveolens* hoja	*Lippia graveolens* tallo
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbohidratos	-	+	-	+	+	+	+	+
Flavonoides	+	-	-	-	-	+	+	+
Glicósidos cianógenos	+	-	-	-	+	+	-	-
Azucares reductores	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	+	+	+	+	-	+	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	+	+	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	-	-	+	+	+	-	-
Purinas	+	+	-	+	-	+	-	+
Carotenoides	+	-	-	-	-	+	-	-

EXTRACTOS ACUOSOS CRUDOS Y RESUSPENDIDOS

NO PRESENTARON ACTIVIDAD ANTIFUNGICA

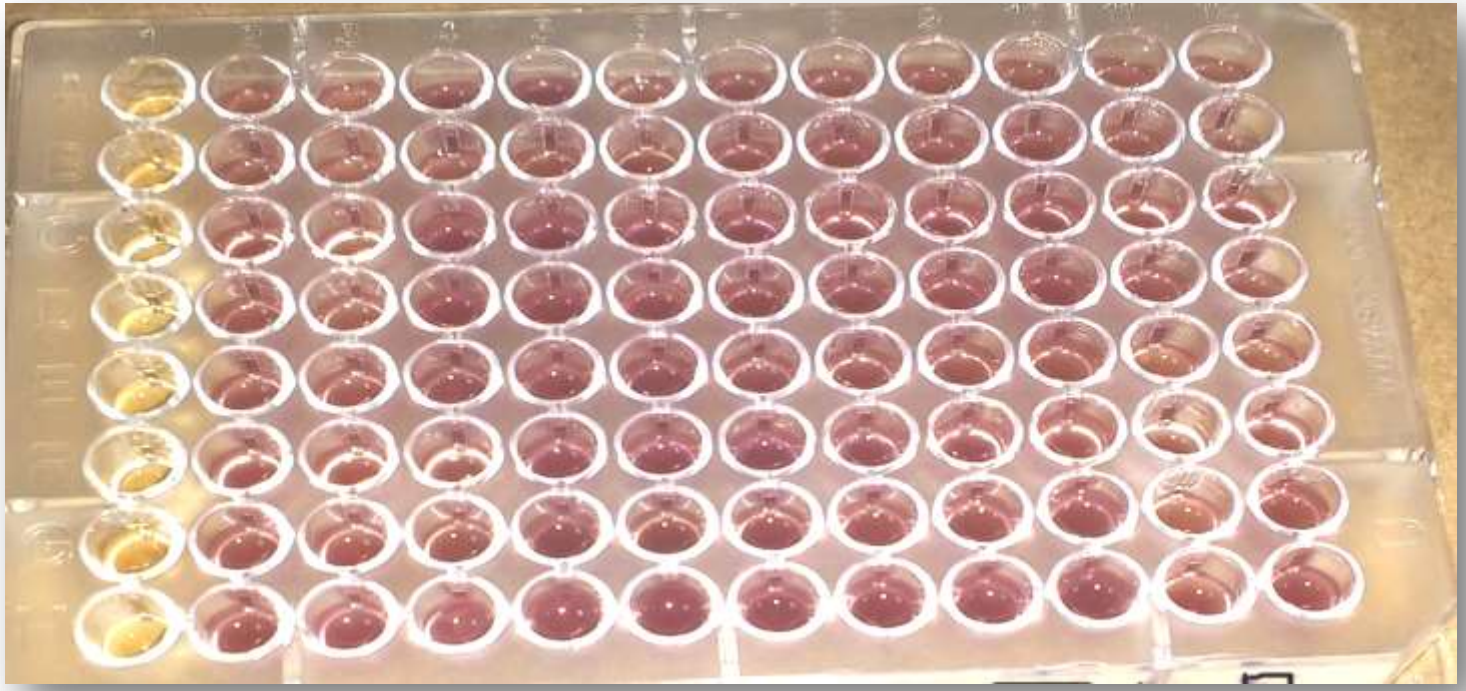
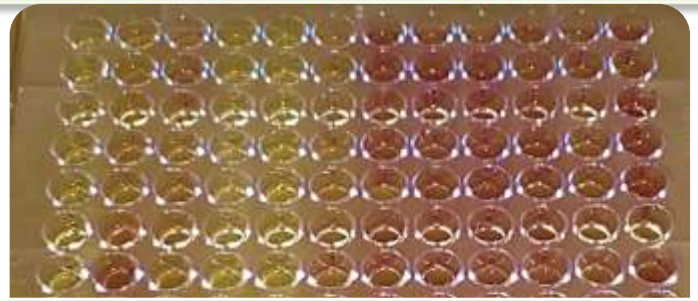


Figura. Microplaca de extractos acuosos con crecimiento de *Fusarium oxysporum*

EXTRACTOS ETOH RESUSPENDIDOS



TRATAMIENTOS	% DE INHIBICIÓN		CONCENTRACIONES INHIBITORIAS		
EXTRACTOS	1000ppm	500ppm	CI50	**C.Fungistatica**	**C.Fungicida**
Larrea tridentata	97.81	34.56	578	250	500
Agave lechuguilla hoja	95.84	53.32	464	250	500
Agave lechuguilla raíz	96.08	54.24	470	250	500
Jatropha dioica raíz	94.68	33.07	507	250	500
Jatropha dioica tallo	91.23	51.98	472	250	500
Carya illinoinensis	92.24	62.87	503	250	500
Lippia graveolens hoja	79.38	7.42	780	250	500
Lippia graveolens tallo	97.24	66.36	487	250	500

Tabla. Porcentajes de Inhibición a 1000 ppm y 500 ppm, CI_{50}, FC, y MFC de los extractos etanólicos resusupendidos

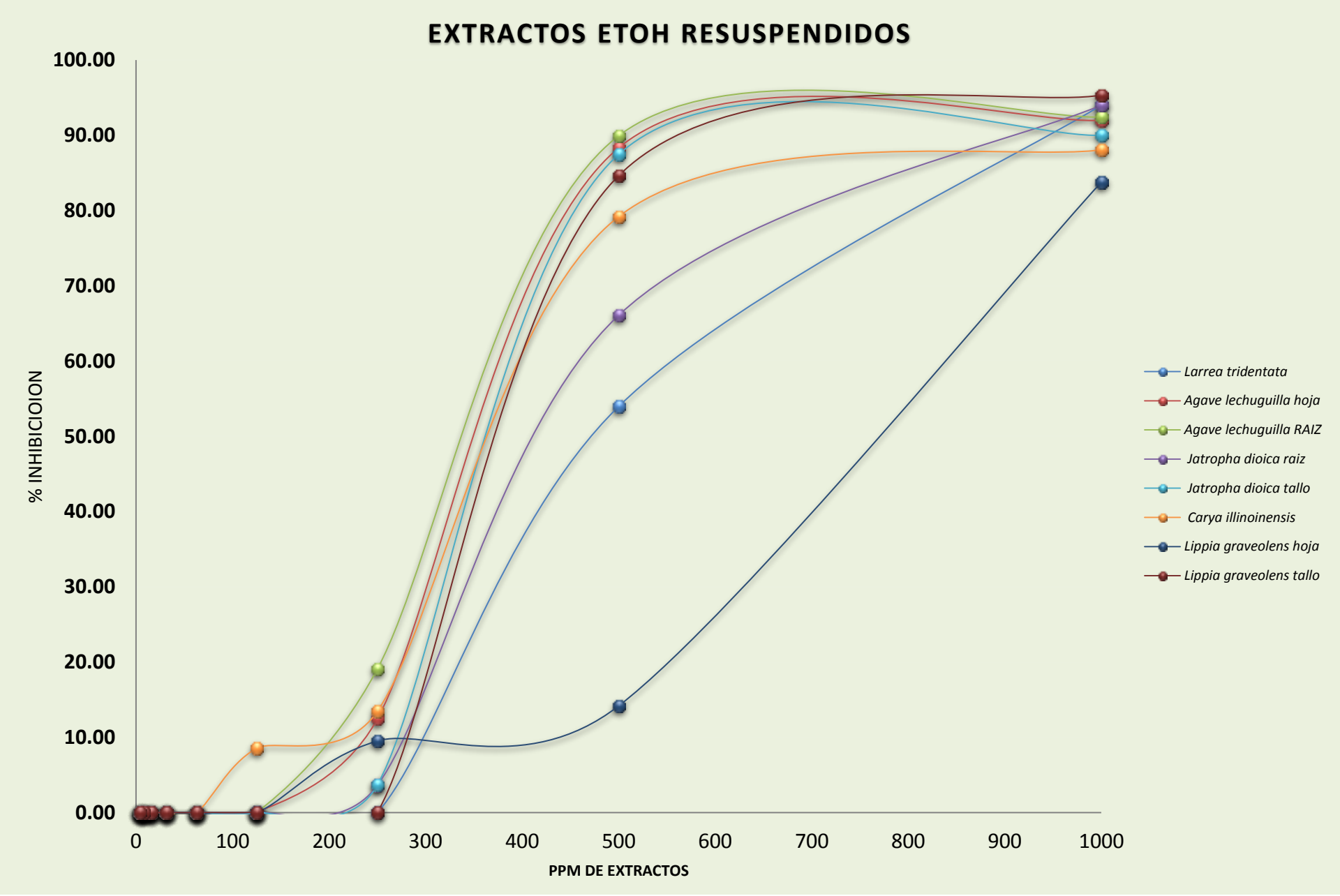


Figura. Representación gráfica de inhibición de extractos etanólicos resuspendidos

EXTRACTOS ETAH CRUDOS

TRATAMIENTOS EXTRACTOS	% DE INHIBICIÓN		CONCENTRACIONES INHIBITORIAS		
	1000ppm	500ppm	CI50	**C.fungistatica**	**C. fungicida**
Larrea tridentata	90.0	54.0	578	250	500
Agave lechuguilla hoja	95.8	47.0	545	250	500
Agave lechuguilla raíz	96.1	46.7	467	250	500
Jatropha dioica raíz	79.0	55.6	494	250	500
Jatropha dioica tallo	80.9	44.2	469	250	500
Carya illinoinensis	87.0	44.5	494	250	500
Lippia graveolens hoja	79.4	39.1	660	250	500
Lippia graveolens tallo	97.2	56.8	471	250	500

Tabla. Porcentajes de Inhibición a 1000 ppm y 500 ppm, CI_{50} MFC, y MFC de los extractos etanólicos crudos

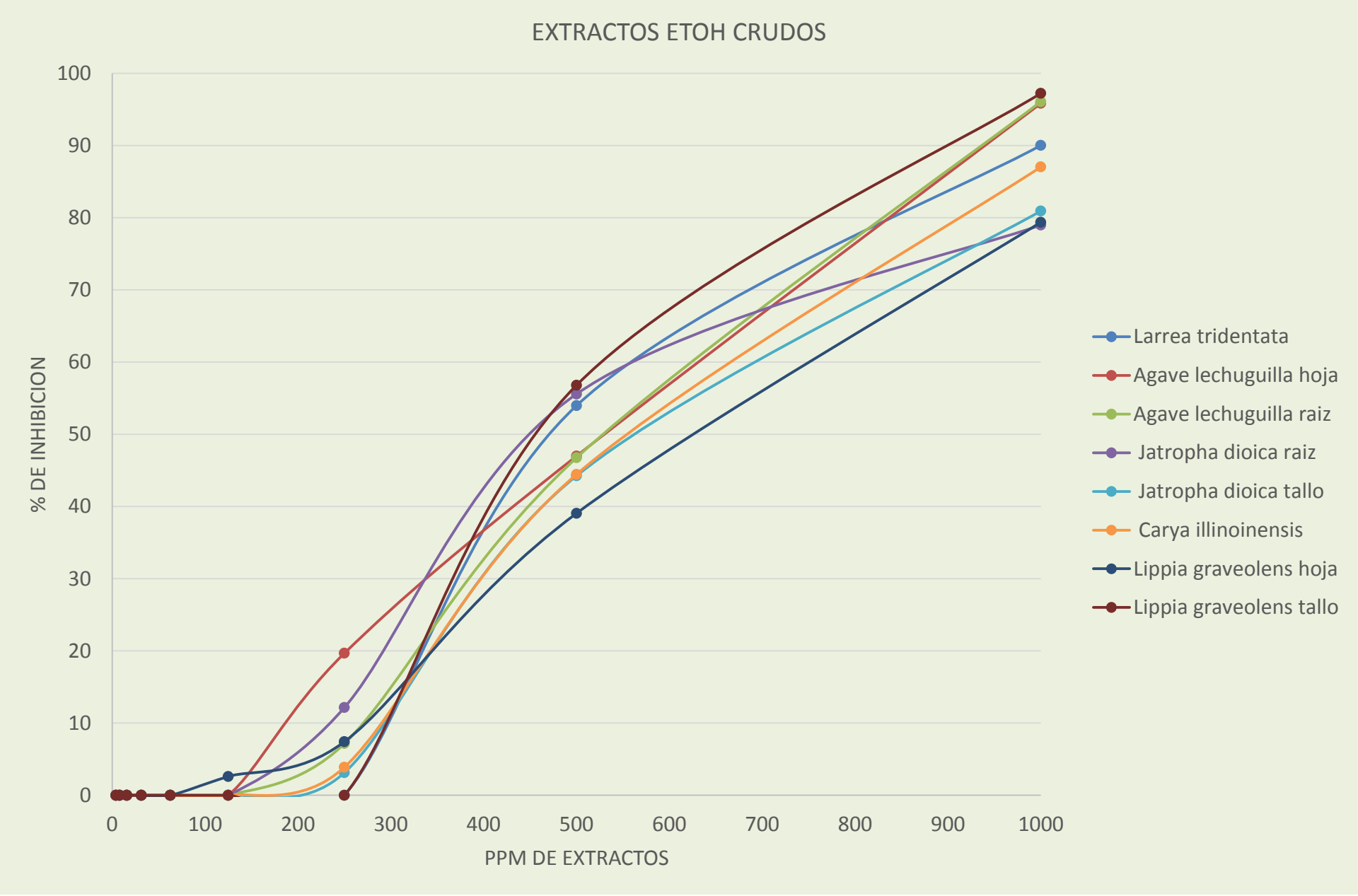


Figura. Representación gráfica de porcentaje de inhibición de extractos etanolicos crudos

% INCIDENCIA

TRATAMIENTOS	% INCIDENCIA
Agave lechuguilla hoja	35
Agave lechuguilla raíz	44
Mezcla	44
Larrea tridentata hoja	57
Lippia graveolens tallo	72
Benomil	85
Control	100

Menor incidencia del patógeno en *Agave lechuguilla* hoja

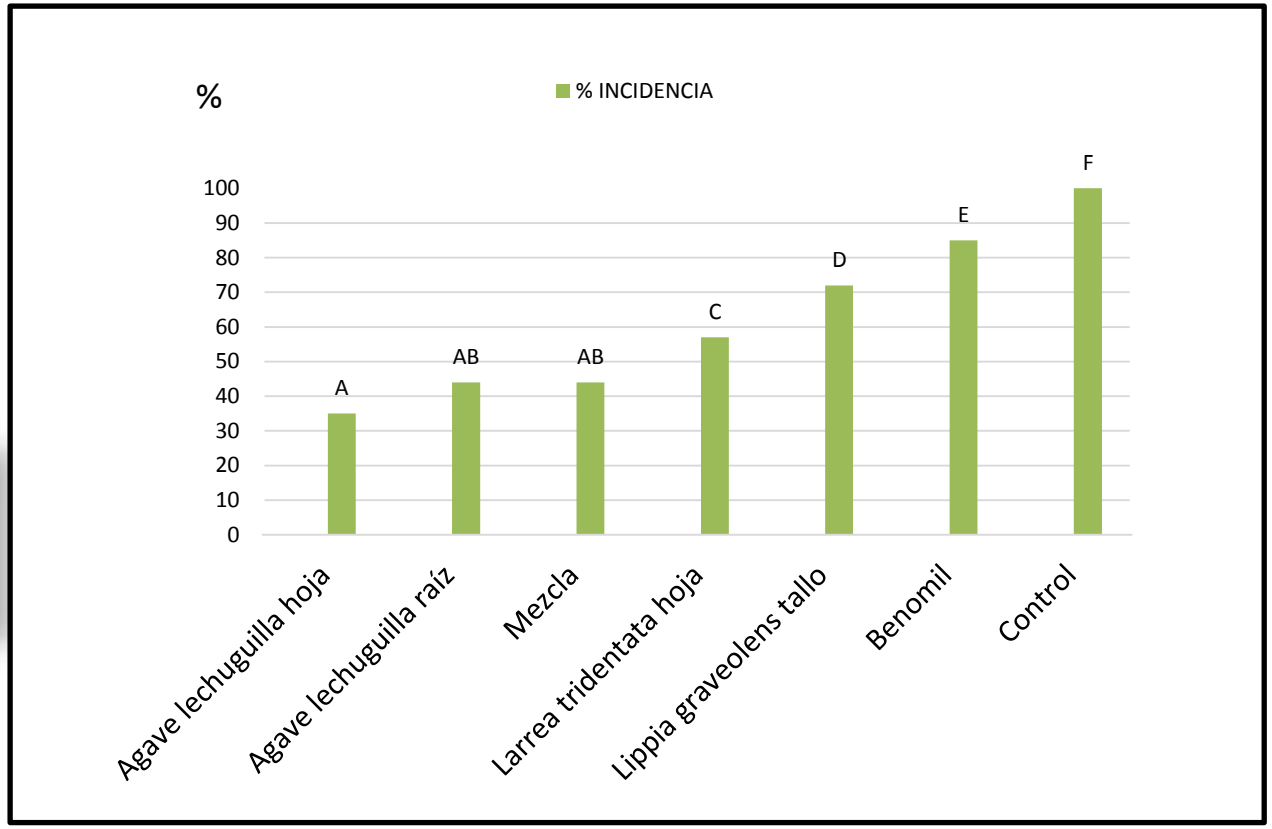
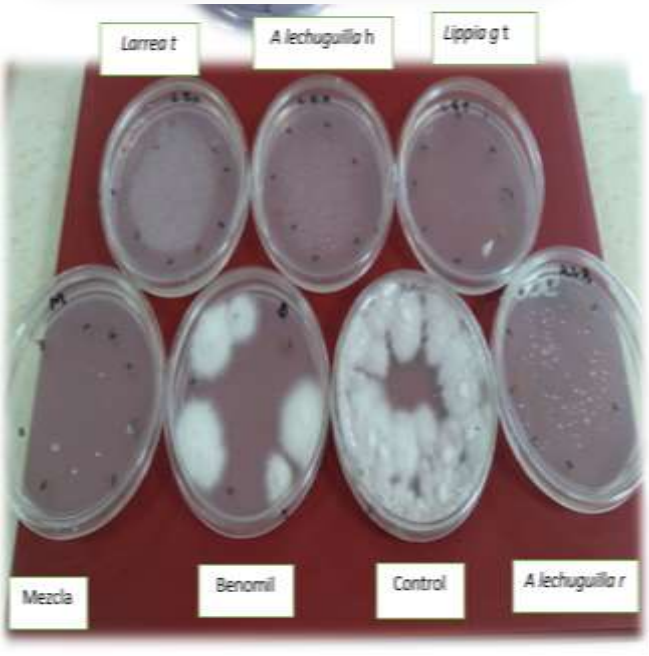


Figura. Incidencia de *Fusarium oxysporum* en semillas de *Picea mexicana* con influencia de los extractos vegetales

% Germinación

65 % en *Agave lechuguilla* hoja

Mayor % germinación
Agave lechuguilla hoja



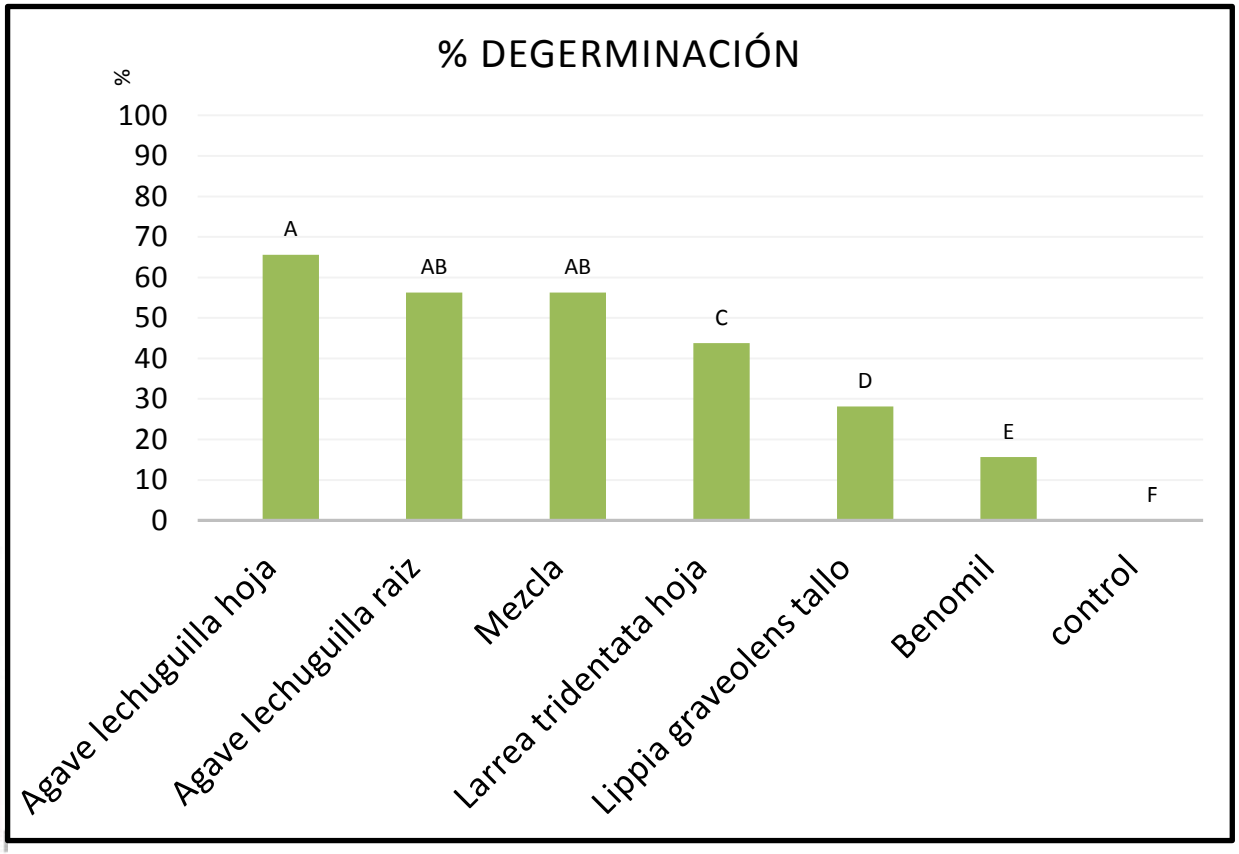


Figura. Germinación de semillas de *Picea mexicana* con influencia de los extractos vegetales

CONCLUSIÓN

- Se Identifico taxonómicamente a *Fusarium oxysporum* como agente causal de la pudrición de raíz en *Picea engelmannii* var. Mexicana
- Los extractos vegetales acuosos no presentaron actividad anti fúngica sobre *Fusarium oxysporum*
- Los extractos vegetales etanólicos de *Agave lechuguilla* hoja y raíz tienen potencial para controlar la pudrición de raíz ocasionada por *Fusarium oxysporum* en *Picea engelmannii*
- Los extractos vegetales de *Agave lechuguilla* hoja *y* raíz disminuyen la incidencia del patógeno en la semilla de *Picea engelmannii*
- Favorecen la germinación a menor incidencia mayor número de semillas germinadas

GRACIAS POR SU ATENCIÓN!!!!!