

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

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): Francisco José APELLIDOS: Abril Suárez

FACULTAD: Ingeniería

PLAN DE ESTUDIOS: Tecnología Química

DIRECTOR:

NOMBRE(S): Luz Yineth APELLIDOS: Ortiz Rojas

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE DURAMEN DE *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand (PERACO)

El Peraco (*Platymiscium pinnatum* Jacq Dugand), es un árbol de uso en la industria maderable por su resistencia al ataque de plagas y microorganismos, en esta investigación se identifican metabolitos posiblemente responsables de esta característica, como son escoparona perteneciente a las cumarinas, eudesmato de metilo perteneciente a los terpenos, homopterocarpin y medicarpin pterocarpanos derivados de las isoflavonas. Además se realizan bioensayos donde se demuestra la actividad antifúngica del extracto etanólico de duramen de *P. pinnatum* contra *Fusarium* spp. Lo cual indica un posible aprovechamiento de los metabolitos secundarios revelados en el extracto de peraco en el control de ataques fúngicos en el sector agrícola.

PALABRAS CLAVES:

-*Platymiscium pinnatum*. -*Fusarium* spp. – Escoparona -Protección de cultivos.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 68

PLANOS: NO

CD ROOM: NO

ILUSTRACIONES: _____

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE DURAMEN DE

Platymiscium pinnatum (Jacq) Dugand (PERACO)

FRANCISCO JOSÉ ABRIL SUAREZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍA

PLAN DE ESTUDIOS DE TECNOLOGÍA QUÍMICA

SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2023

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE DURAMEN DE

Platymiscium pinnatum (Jacq) Dugand (PERACO)

FRANCISCO JOSÉ ABRIL SUAREZ

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de

Tecnólogo Químico

DIRECTORA

Luz Yineth Ortiz Rojas

Lic. En Química, M.Sc.

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍA

PLAN DE ESTUDIOS DE TECNOLOGÍA QUÍMICA

SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2023



**PROGRAMA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA
ACTA DE SUSTENTACION DE TRABAJO DE GRADO**

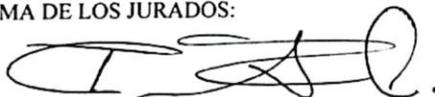
FECHA: 27 DE NOVIEMBRE DE 2023
HORA: 4:00 PM.
LUGAR: SC 301- UFPS
TITULO DEL TRABAJO DE GRADO: "ESTUDIO FITOQUIMICO Y ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE DURAMEN DE PLATYMISCIUM PINATUM (JACA) DUGAND (PERACO)"
MODALIDAD: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
JURADOS EVALUADORES: PEDRO SAÚL RIVERA CARVAJAL
ERNESTO CASTRO RAMÍREZ
DIRECTOR(A): LUZ YINETH ORTIZ ROJAS
CO-DIRECTOR(A):

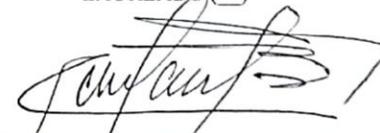
NOMBRE(S) DEL(LOS) ESTUDIANTE(S)	CÓDIGO(S)	NOTA	
		NÚMERO	LETRA
FRANCISCO JOSÉ ABRIL SUÁREZ	1930138	4,3	CUATRO, TRES

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN:

REPROBADO () APLAZADO () APROBADO ()
MERITORIO () LAUREADO ()

FIRMA DE LOS JURADOS:


PEDRO SAUL RIVERA CARVAJAL


ERNESTO CASTRO RAMIREZ

Vo. Bo.:


JUAN MARIA TORRES CARREDO
Director Programa Tecnologia Química

Agradecimientos.

A Dios todo poderoso por acompañarme en este camino de aprendizaje y experiencias, donde su mano misericordiosa me acompañó en cada esfuerzo por sacar adelante esta etapa de mi vida.

Le doy gracias a mis padres por acompañarme en el camino recorrido inculcándome los valores que me guían para seguir en el camino de la vida por el camino del bien. Así mismo a mis hermanas Natalia Abril Suarez y María del Carmen Abril Suarez por ser parte de mi vida.

Quiero agradecer a mi esposa Stefany Julieth Alarcón Pabón por ser mi apoyo y mi compañera de luchas en el desarrollo de este camino de trabajo y Fe en compañía de Dios.

Al grupo de investigación Fitobiomol, por esa colaboración y cariño que brindan a sus estudiantes para que lleven a cabo procesos investigativos, que siempre lleguen a buen puerto todas sus metas y proyectos.

RESUMEN

El Peraco (*Platymiscium pinnatum Jacq Dugand*), es un árbol reportado en Centro y Suramérica, al que se le ha dado usos agroforestales e industriales. Esta investigación genera el primer reporte fitoquímico de la especie *Platymiscium pinnatum*, que contribuirá al conocimiento etnobotánico de plantas de la región; donde debido a su uso en la industria maderable por su resistencia al ataque de plagas y microorganismos, se identifican metabolitos posiblemente responsables de esta característica, como son escoparona perteneciente a las cumarinas, eudesmato de metilo perteneciente a los terpenos, homopterocarpin y medicarpin pterocarpanos derivados de las isoflavonas. Se demostró la actividad antifúngica del extracto etanólico de duramen de *P. pinnatum* contra *Fusarium* spp. Los tratamientos, extracto puro y una dilución 1:1 del extracto, fueron los más efectivos en la inhibición del crecimiento del hongo. Esto sugiere que los metabolitos secundarios identificados en el extracto tienen un efecto significativo en el control de este fitopatógeno, el cual representa una problemática para los cultivos y la postcosecha agrícola. Este patógeno puede causar grandes pérdidas en una amplia variedad de cultivos, desde cereales hasta frutas y verduras. Sus implicaciones incluyen la disminución de la calidad y cantidad de cosecha, la pérdida de ingresos para los agricultores y la inseguridad alimentaria. *Fusarium* spp. También puede producir toxinas perjudiciales para la salud humana y animal, lo que implica aún más sus consecuencias negativas.

Palabras claves: *Platymiscium pinnatum*, *Fusarium* spp., Escoparona, protección de cultivos.

TABLA DE CONTENIDOS

<u>Introducción</u>	1
1. <u>El problema</u>	2
1.1. <u>Título</u>	2
1.2. <u>Planteamiento del Problema</u>	2
1.3. <u>Formulación del Problema</u>	4
1.4. <u>Justificación</u>	4
1.5. <u>Objetivos</u>	6
1.5.1. <u>Objetivo General</u>	6
1.5.2. <u>Objetivos Específicos</u>	6
2. <u>Marco de referencia</u>	7
2.1. <u>Antecedentes</u>	7
2.2. <u>Marco Teórico</u>	7
2.2.1. <u>Clasificación taxonómica de <i>Platymiscium pinnatum</i> (Jacq) Dugand</u>	7
2.2.2. <u>Metabolitos secundarios en la familia fabáceas</u>	10
2.2.3. <u>Métodos para obtención de extractos vegetales</u>	10
2.2.3.1. <u>Maceración</u>	11
2.2.4. <u>Concentración de extracto de presión reducida</u>	11
2.2.5. <u>Reconocimiento de metabolitos secundarios</u>	12
2.2.5.1. <u>Terpenoides</u>	13
2.2.5.2. <u>Compuestos fenólicos y sus derivados.</u>	14
2.2.5.3. <u>Compuestos nitrogenados o alcaloides</u>	15

2.2.6.	<u>Antecedentes cromatógrafos</u>	15
2.2.6.1.	<u>Cromatografía de capa fina (TLC).</u>	16
2.2.6.2.	<u>Cromatografía de gases acoplado a masas (Cg-Ms).</u>	18
2.2.7.	<u>Fusarium Sp</u>	19
2.2.7.1.	<u>Especies de Fusarium sp.</u>	20
2.2.7.2.	<u>Mecanismos de infección.</u>	21
2.3.	<u>Marco legal</u>	23
3.	<u>Diseño Metodológico</u>	25
3.1.	<u>Localización y materiales</u>	25
3.1.1.	<u>Localización</u>	25
3.1.2.	<u>Materiales</u>	25
3.2.	<u>Metodología</u>	26
3.2.1.	<u>Tipo de investigación</u>	26
3.2.2.	<u>Diseño experimental.</u>	26
3.2.3.	<u>Análisis estadístico.</u>	26
3.2.4.	<u>Metodología experimental</u>	27
3.2.4.1.	<u>Obtención del extracto</u>	27
3.2.4.2.	<u>Marcha fitoquímica</u>	29
3.2.4.3.	<u>Separación de metabolitos por capa fina</u>	30
3.2.4.4.	<u>Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía de gases acoplada a masas Gc-Ms.</u>	30
3.2.4.5.	<u>Preparación de las cepas de Fusarium Sp.</u>	31
3.2.4.6.	<u>Preparación de las concentraciones del extracto.</u>	31

3.2.4.7.	<u>Siembra y evaluación antifúngica del extracto.</u>	31
4.	<u>Resultados y discusiones</u>	33
4.1.	<u>Obtención de extracto vegetal</u>	33
4.2.	<u>Caracterización fitoquímica</u>	33
4.3.	<u>Cromatografía de Gases acoplado a masas (GC-MS)</u>	37
4.4.	<u>Bioactividad del extracto de <i>Platymiscium pinnatum</i> contra <i>Fusarium</i> sp.</u>	42
5.	<u>Conclusiones</u>	47

Lista de referencia

ANEXOS

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Platymiscium pinnatum</i> .	9
Tabla 2. Taxonomía de <i>Fusarium spp</i>	20
Tabla 3. Tratamientos utilizados en la evaluación de los extractos	27
Tabla 4. Metabolitos secundarios, reactivos e indicador de presencia	30
Tabla 5. Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de duramen de <i>Platymiscium pinnatum</i>	36
Tabla 6. Identificación de los componentes presentes en el extracto de duramen de <i>Platymiscium pinnatum</i> por GC-MS	38

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Árbol de peraco, vereda Los Peracos, San José de Cúcuta.	8
Figura 2. Tronco de peraco.	9
Figura 3. Flor y fruto árbol de Peraco	10
Figura 4. Equipo agitador digital incubado	11
Figura 5. Rotavapor, equipo de concentración a presión reducida	12
Figura 6. Estructura química de retinol (vitamina A).	13
Figura 7. Estructura química el tirosol.	14
Figura 8. Montaje general de TLC	17
Figura 9. Representación esquemática de un cromatógrafo de gases.	18
Figura 10. Crecimiento y conidias de diferentes biotipos de <i>fusarium sp.</i>	21
Figura 11. Marchitamiento y defoliación en cultivo de naranjo	22
Figura 12. Síntomas de marchitamiento por <i>fusarium spp</i> en banano.	22
Figura 13. Extracción y concentración del extracto etanólico <i>P. Pinnatum</i>	28
Figura 14. Identificación de metabolitos secundarios	29
Figura 15. Extracto etanólico de duramen de peraco (<i>Platymiscium pinnatum</i>)	33

Figura 16. Evaluación de solventes en cromatografía de capa fina (TLC)	34
Figura 17. Visualización de placa TLC a 254 nm.)	35
Figura 18. Cromatógrama del extracto de duramen de peraco por GC-MS	39
Figura 19. Estructura química de la cumarina, Escoparona	40
Figura 20. Medicarpin	41
Figura 21. Estructura del eudesmato de metilo	42
Figura 22. Actividad antifúngica de diluciones del extracto	43
Figura 23. Actividad antifúngica de diluciones del extracto	45

Anexos

Anexo 1. Análisis de varianza (halos de inhibición (mm)):

Anexo 2. Medias LS para el factor Tratamiento

INTRODUCCION

El Departamento Norte de Santander posee una gran biodiversidad de flora y recursos naturales que a lo largo de la historia permitieron el desarrollo y sostenibilidad del departamento, como la especie Fabaceae *Platymiscium Pinnatum*, este árbol se encuentra en el bosque seco tropical del área metropolitana de San José de Cúcuta conocido con el nombre de peraco. El cual tiene un aprovechamiento maderable, debido a su alta resistencia y durabilidad en exteriores, se emplea en construcciones pesadas, muebles finos, madera contrachapada, instrumentos musicales, entre otros. Debido a su alta resistencia a la descomposición natural de la madera que sin tratamiento químico adicional presenta y la falta de información sobre su composición fitoquímica, este trabajo se planteó como objetivo la realización de un estudio fitoquímico y cromatografico para identificar la presencia de componentes que intervenían en dicha característica, así mismo se evaluó la posible actividad antifúngica del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* jacq Dugand contra el hongo *fusarium* sp.

1. PROBLEMA

1.1. Titulo

Estudio fitoquímico y actividad antifúngica de duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand (peraco).

1.2. Planteamiento Del Problema

A lo largo de la historia, las plantas maderables han desempeñado un papel fundamental en la industria, aprovechando sus notables propiedades mecánicas, tales como durabilidad, dureza, resistencia y capacidad de preservación (Ramírez, Quiñones & Enríquez, s. f.). Estas cualidades las convierten en materiales de elección en campos como la ebanistería, la carpintería y la construcción en madera. Sin embargo, es importante destacar que su uso se restringe principalmente al tronco de la planta, dejando de lado otras partes como las hojas, la corteza, las flores, los frutos y las raíces, que pueden contener compuestos bioactivos de gran interés en aplicaciones que van desde la medicina y la cosmética hasta la agricultura y la zoología (Restrepo, 2010).

Platymiscium pinnatum (jacq) es un árbol perteneciente a la familia Fabaceae y es ampliamente conocido por su valor en la industria maderera. Se encuentra distribuido en todo el continente americano, desde Guatemala y Costa Rica hasta Brasil y Venezuela. En Colombia, su presencia se registra en diversas regiones, incluyendo la Costa Atlántica, el Valle seco del Río Magdalena, el Magdalena Medio, Tolima, Huila, el Cañón del Río Cauca, la zona de Urabá, Santafé de Antioquia, Sopetrán, San Jerónimo y La Pintada. Además, en el departamento de Norte de Santander, se ha identificado en las zonas rurales de Cúcuta, como Cerro Tasajero, Los

Peracos y Carmen de Tonchala, donde la población local lo conoce con varios nombres comunes, como Peraco, roble, Trébol, Trébol negro, corazón negro y guayacán (Bustos Molina, 2014).

Este árbol, conocido por su madera de alta calidad, desempeña un papel relevante en la industria maderera y tiene un alcance geográfico significativo en toda la región americana, siendo un recurso valioso tanto en términos económicos como culturales.

Dentro de la familia Fabaceae, se han identificado numerosas sustancias bioactivas que merecen especial atención. Estas sustancias incluyen alcaloides, flavonoides y polifenoles, que se han asociado con efectos beneficiosos como propiedades antidiabéticas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Martínez et al. 2011). Sin embargo, es importante destacar que hasta el momento no se han realizado estudios en Colombia que hayan revelado o indicado los componentes fitoquímicos específicos presentes en *Platymiscium pinnatum*, que podrían estar relacionados con su resistencia a insectos, plagas y hongos.

El propósito fundamental de este proyecto radica en la identificación de los fitocompuestos responsables de esta notable característica de resistencia en *Platymiscium pinnatum*. Para lograr este objetivo, se llevarán a cabo pruebas fitoquímicas, cromatografía de capa fina y cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS). Estas técnicas permitirán detectar y analizar la presencia de metabolitos secundarios en la planta y, al mismo tiempo, evaluar su posible bioactividad antifúngica frente a *Fusarium* sp.

Este estudio reviste una gran importancia, ya que contribuirá al entendimiento de las propiedades químicas y biológicas de *Platymiscium pinnatum*, lo que podría tener aplicaciones significativas en la agricultura y la protección de cultivos, además de abrir nuevas perspectivas en la utilización de los recursos naturales de manera sostenible.

1.3. Formulación del Problema

¿Los metabolitos secundarios que podrían estar presentes en el duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand muestran actividad antifúngica contra *Fusarium* sp.?

1.4. Justificación

Colombia se destaca como un país de economía predominantemente agrícola, donde la optimización de los cultivos, la eficiente gestión de los recursos del suelo y la mitigación de los daños causados por plagas e insectos desempeñan un papel crucial en la mejora del rendimiento y la calidad de las cosechas. Estos factores ejercen una influencia significativa en la competitividad tanto en los mercados nacionales como en los internacionales (Berdegué et al. 2012).

Además, Colombia se encuentra entre los países más ricos en biodiversidad, lo que ha impulsado y facilitado la investigación sobre las plantas y sus componentes bioactivos. Debido a la vasta cantidad y variedad de plantas presentes en Colombia, algunas de ellas carecen de estudios que revelen su composición metabólica y su potencial uso. Este es el caso del *Platymiscium pinnatum* (Jacq) DUGAND, un árbol con valor en la industria maderera (Méndez 2000)

En este contexto, se busca identificar compuestos presentes en el *P. pinnatum* que puedan tener actividad biológica y ser aprovechados en la agricultura, especialmente en cultivos afectados por infecciones fúngicas, como el caso de *Fusarium* sp. El género *Fusarium* abarca una amplia variedad de especies, algunas de las cuales son patógenas y otras saprófitas. Estas especies se consideran altamente exitosas como patógenos en plantas y están presentes tanto en zonas templadas como tropicales. Tienen la capacidad de afectar diversos tejidos, órganos en desarrollo y frutos de las plantas, lo que conlleva pérdidas significativas en la postcosecha de

cultivos como guanábana, tomate de árbol, mora, papaya, mango, cítricos y banano (Hernández Medina, 2016).

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Realizar el tamizaje fitoquímico del duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand (peraco) y evaluar la actividad antifúngica en *fusarium* sp.

1.5.2. Objetivos Específicos

1.5.2.1. Identificar los compuestos fitoquímicos presentes en el duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand (peraco) mediante técnicas de análisis fitoquímico.

1.5.2.2. Identificar los metabolitos secundarios mayoritarios por cromatografía de gases acoplada a masas (CG-MS) del extracto metanólico de peraco (*Platymiscium pinnatum*, Jacq).

1.5.2.3. Evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico del duramen de *Platymiscium pinnatum*, Jacq mediante el método de dilución en agar para *fusarium* sp.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1. Antecedentes.

Actividad antifúngica in vitro de especies maderables de la Guyana Venezolana, donde se determinó el efecto microbiológico de los metabolitos secundarios presentes en extractos de duramen de Puy (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nicholson), Zapatero (*Peltogyne porphyrocardia* Griseb.), Algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.) y Cartan (*Centrolubium paraense* Tul. var. *orinocense* Benth), frente a dos de los más comunes microorganismos que causan deterioro de la madera *G. traveum* y *T. versicolor*. Los resultados de este artículo investigativo demuestran inhibición de crecimiento de las especies estudiadas empleando extractos acetónicos y etanólicos (Velásquez et al. 2006)

Búsqueda de Metabolitos Secundarios en el Sector Maderero: Investigación del Potencial Químico y Biológico de Residuos Maderables como Aserrín de Saboarana (*Swartzia laevicarpa* Amshoff) y Macacauba (*Platymiscium ulei* Harms), con un enfoque en la alta concentración de xanthyletin, una cumarina con propiedades antiagregantes plaquetarias, antifúngicas y herbicidas (García, 2009)

2.2. Marco Teórico

2.2.1. Clasificación taxonómica de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand.

Es un árbol perteneciente a la familia Fabaceae, especie fijadora de nitrógeno en sitios desde 0 a 1000 msnm y temperaturas que oscilan entre 20 y 30 °C. Es una especie heliófita que tolera suelos infértiles, crece bien tanto en climas secos como húmedos, desde el nivel del mar hasta 1000 msnm, con precipitaciones entre 1000 y 3000 mm anuales. Se le encuentra en las formaciones vegetales: monte espinoso tropical (me-T), bosque seco tropical (bs-T) y bosque

húmedo a muy húmedo tropical (bh-T, bmh-T), tanto en lomas como en terrenos planos bien drenados (Restrepo, 2010).



Figura 1. Árbol de peraco, (*Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand)
Vereda Los Peracos, San José de Cúcuta. Fotografía: Abril, F. 2019

Puede alcanzar alturas de hasta 40m y diámetros de hasta 1 m de diámetro en su tallo. El fuste es recto, cilíndrico, sin ramas en los dos tercios basales, de base alargada o con gambas cóncavas. Corteza de color gris oscuro a blanco grisáceo, fisurada longitudinalmente, se desprende en piezas rectangulares. La albura es de color blanco cremoso y contrasta con el duramen de un rojo café vivo, con rayas púrpura Oscuras. Posee Hojas compuestas, opuestas, imparipinnadas, con 4 a 7 folíolos de 5-20 cm de largo y 2.5 a 8 cm de ancho, ovados a elíptico acuminados, de margen entero, ápice acuminado y base obtusa. Flores numerosas, pubescentes, de color amarillo o naranja, de 1-1.5 cm de largo, en inflorescencias axilares de 9-17 cm de largo

sobre nudos defoliados, que hacen al árbol muy conspicuo a la distancia. Frutos vainas indehiscentes, aplanados, de 5-12 cm de largo y 3-5 cm de ancho, alada, obtusa o redondeada en el ápice, aguda en la base. Contienen una sola semilla de forma arriñonada, comprimida, de 20-23 mm de largo y 10-12 mm de ancho, con testa de color café oscuro, lisa o ligeramente rugosa, coriácea (Méndez, 2000)

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Platymiscium pinnatum*.

TAXONOMIA	
NOMBRE CIENTIFICO	<i>Platymiscium pinnatum</i> (Jacq) Dugand
REINO	Plantae
PHYLUM	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Fabales
FAMILIA	Fabaceae
GENERO	<i>Platymiscium</i>
ESPECIFICO	<i>Pinnatum</i>
AUTOR EPÍTETO ESPECIFICO	(Jacq.) Dugand

Fuente: Herbario Universidad Nacional de Colombia. (2023).
<https://www.gbif.org/es/dataset/18da9e5d-8966-4893-bf70-b3911152d991>

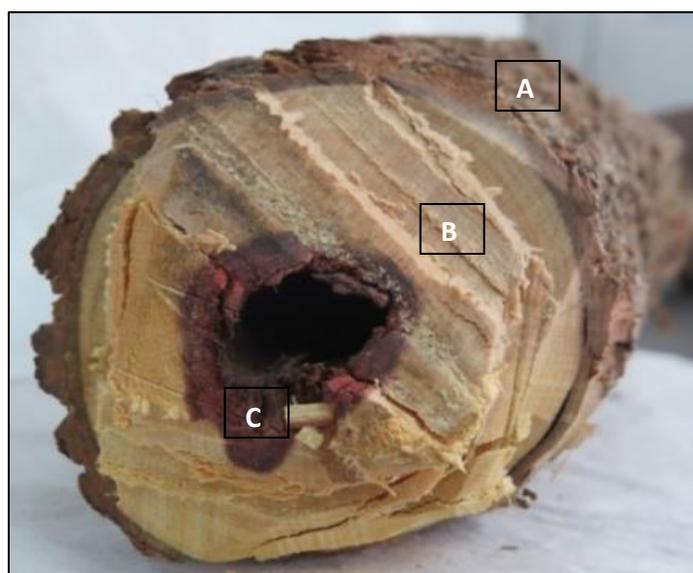


Figura 2. Tronco de peraco, (*Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand)

A: Corteza. B: Albura C: Duramen de color rojo característico.

Fotografía: Abril, F. , 2019

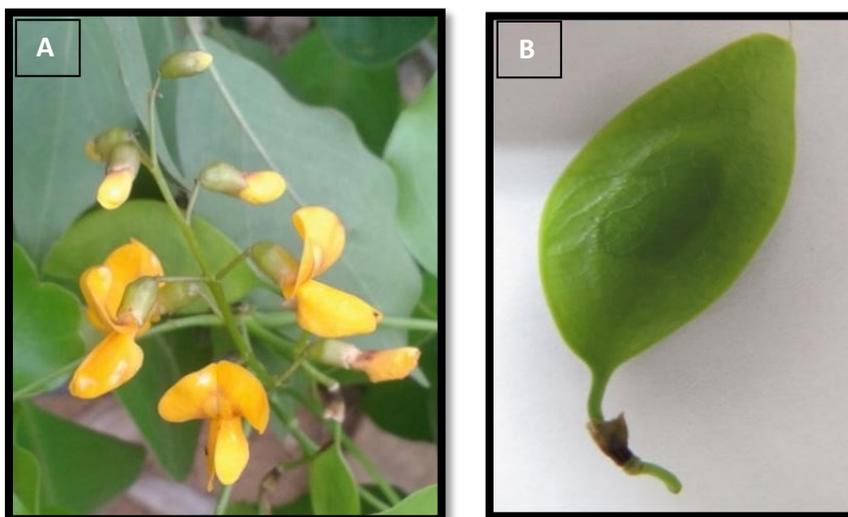


Figura 3. A. Flor y B. Fruto de peraco (*Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand).
Fotografía: Abril, F. , 2019

2.2.2. Metabolitos secundarios en la familia fabáceas.

Esta familia Fabaceae se caracteriza por la presencia de numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química en corteza, hojas y raíz. De esta familia se han caracterizado y reportado la presencia de alcaloides, flavonoides y polifenoles. La bioactividad de este tipo de metabolitos de plantas está asociada a su efecto antidiabético, antiinflamatorio y antimicrobiano (Martínez et al., 2011).

2.2.3. Métodos para obtención de extractos vegetales.

Los métodos de extracción se emplean para obtener concentraciones correctas de principios activos y las sustancias beneficiosas que se encuentran presentes en las plantas (González Villa & others, 2004), los procesos de extracción más simples empleados se dividen de acuerdo al disolvente utilizado:

Extracción con agua: infusión, destilación por arrastre con vapor de agua y decocción.
Extracción con solventes orgánicos: maceración, lixiviación o percolación, extracción Soxhlet, digestión y por fluido supercrítico.

2.2.3.1. Maceración. Proceso de extracción simple solido-líquido de los componentes activos de las plantas, De esta manera el material vegetal (sólido) tiene una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer. La maceración consiste principalmente en dejar la planta sumergida en un disolvente durante un lapso más o menos largo, en un recipiente con cierre hermético, protegido de la luz, para evitar posibles reacciones, con agitación constante por un tiempo que oscila entre cuatro y diez días (Carrión Jara & García Gómez, 2010).



Figura 4. Equipo Agitador Digital Incubado (PLANTAE). Fotografía: Abril, F. , 2019

2.2.4. Concentración de extracto vegetal a presión reducida.

Este procedimiento consiste en evaporar mediante una combinación de temperatura provista por un baño calefactor y la generación de presión de vacío. Se produce una rotación que aminora el peligro de ebullición y se acelera la evaporación mediante el aumento de la superficie de la solución, Consiste en eliminar un disolvente orgánico de una mezcla de reacción El motor eléctrico produce el giro de un tubo que tiene un ajuste esmerilado al cual se acopla el matraz de

fondo redondo que contiene la disolución. El matraz debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua y girando. En el caso de disolventes orgánicos usuales la temperatura del baño debe oscilar entre 35 – 40 °C Acoplado al sistema hay un refrigerante por el que circula generalmente agua, que origina la condensación de los vapores del disolvente que se recogen en un colector El conjunto es un sistema cerrado conectado a una bomba de vacío, una trompa de agua o un circuito de vacío Esto también se puede realizar mediante destilación simple, sin embargo, es el procedimiento más empleado por ser más rápido y cómodo (López Sánchez, 2005).



Figura 5. Rotavapor, equipo de concentración a presión reducida. Fotografía: Abril, F. , 2019.

2.2.5. Reconocimiento de metabolitos secundarios.

Gran parte de los principios activos presentes en las plantas se denominan productos naturales o metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, de distribución limitada y características de fuentes botánicas específicas, ejemplos;

alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides, taninos etc. El estudio de los metabolitos secundarios de las plantas estimuló el desarrollo de las técnicas de separación, la cromatografía, la espectroscopia para dilucidar su estructura, y entre otras metodologías de síntesis que hoy constituyen la fundación de la química orgánica contemporánea. El reconocimiento de propiedades biológicas de muchos metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas. Además, la creciente apreciación de los altamente diversos efectos biológicos de los metabolitos secundarios ha llevado a reevaluar los diferentes roles que poseen las plantas, especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas (Mencías Paredes, 2015).

Los metabolitos secundarios se encuentran divididos agrupan en tres grupos según su origen biosintético: terpenos, Compuestos fenólicos como los fenilpropanoides y sus derivados, Compuestos nitrogenados o alcaloides.

2.2.5.1. Terpenoides. Todos los terpenoides, tanto los que participan del metabolismo primario como los más de 25.000 metabolitos secundarios, son derivados del compuesto IPP (Isopentenil difosfato o "5-carbono isopentenil difosfato") que se forman en la vía del ácido mevalónico. Es un grupo grande de metabolitos con actividad biológica importante. Están distribuidos ampliamente en las plantas y muchos de ellos tienen funciones fisiológicas primarias. La distribución de unos pocos de ellos en las plantas es más restringida, como los que forman los aceites esenciales, entre otros (Gudiel, 2009).



Figura 6. Estructura química de Retinol (vitamina A). Alnuzara, 1997

2.2.5.2. Compuestos fenólicos como los fenilpropanoides y sus derivados. Los más de 8.000 compuestos fenólicos que se conocen están formados o bien por la vía del ácido shikímico o bien por la vía del malonato/acetato (Gudiel, 2009). Compuestos fenólicos engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombres populares del hidroxibenceno, unidos a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenóles no son polifenoles, sino monofenoles. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenóles son sintetizados por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenóles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (p. ej. los antocianos son los responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). Por otro lado, cuando los fenóles son oxidados, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo que muchas veces es indeseable (Creus, 2004).

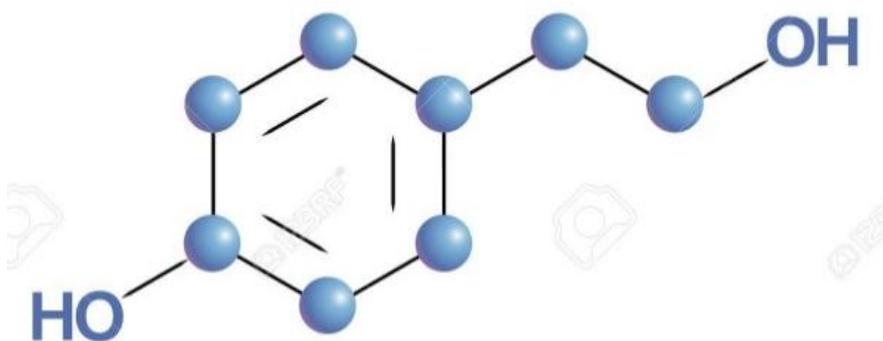


Figura 7. Estructura química el tirosol. Creus, 2004

2.1.5.3. Compuestos nitrogenados o alcaloides: La cantidad de productos descritos, su diversidad estructural y el abanico de sus actividades farmacológicas hacen de los alcaloides juntos con los antibióticos uno de los grupos más importantes, entre las sustancias naturales con interés terapéutico. El término alcaloide se refiere explícitamente a las propiedades básicas de estos compuestos que fueron llamadas al principio del siglo XIX, los álcalis vegetales. Realmente no existe una definición sencilla de alcaloides, ya que en ella, es difícil tener en cuenta las distintas diferencias en cuanto a estructura y propiedades de los cerca de 12.000 compuestos descritos en este grupo. Sobre todo es difícil establecer la frontera que separa los alcaloides, de otros compuestos orgánicos nitrogenados de origen natural. Por lo tanto se debe considerar clasificar como alcaloides: Las sustancias de origen natural nitrogenadas con carácter más o menos básico, de distribución restringida y dotadas a dosis débiles de propiedades farmacológicas arcadas, los cuales son biosintetizados principalmente a partir de aminoácidos. El agrupamiento de este conjunto de moléculas, se ha confirmado por reacciones comunes de precipitación. Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas. Son fisiológicamente activos en los animales, aún en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la colchicina, la quinina, y la esticnina (Barahona Avalos & Guevara Granados, 2007).

2.2.6. Antecedentes cromatógrafos

La cromatografía comprende un grupo de métodos de purificación e identificación de compuestos que depende de las afinidades diferenciales de los compuestos entre dos fases inmiscibles. Una de las fases es fija con una gran área superficial y la otra es un fluido que se mueve a través o sobre la superficie de la fase fija. La fase fija se denomina fase estacionaria y la fase que fluye se llama fase móvil. La primera puede ser una sustancia porosa o un sólido

finamente dividido o un líquido que se encuentra recubriendo un soporte inerte. La segunda puede ser un líquido puro, un gas o una mezcla de disolventes o de soluciones. Existen varias técnicas cromatográficas dependiendo del tipo de fase fija y fase móvil, como cromatografía de gases, de absorción y líquida (Sánchez et al., 2008)

2.2.6.1. Cromatografía de capa fina (TLC): La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. Polaridad de los compuestos orgánicos en orden creciente:

Hidrocarburos < olefinas < flúor < cloro < nitro < aldehído

Aldehído < ester < alcohol < cetonas < aminas < ácidos < amidas

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) ya que el utillaje que precisa es más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. Pueden usarse reveladores corrosivos, que sobre papel destruirían el cromatograma. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos. Al realizar la elección del adsorbente se debe tener en cuenta el tamaño de las partículas del adsorbente, cuanto más

finamente dividido esté mayor será su adhesión al soporte, aunque también se le puede añadir un adherente.

En la elección del eluyente influyen varios factores: precio, pureza, no utilizar mezclas de eluyentes (reproducibilidad), no utilizar compuestos muy volátiles, evitar que contengan trazas de metales (catalizadores). La elección del eluyente se realiza de forma empírica. Hay que estudiar la polaridad del componente y probar con eluyentes cada vez menos polares.

Generalmente se utiliza como reactivo revelador yodo, el cual forma complejos coloreados con los componentes orgánicos (con tonos amarillo-marrón), pero las manchas desaparecen con el tiempo con lo que es conveniente señalar las manchas aparecidas. Otro reactivo revelador bastante utilizado es el ácido sulfúrico, que reacciona con los componentes orgánicos produciendo manchas negras. Sin embargo debe tenerse en cuenta que el tamaño de las manchas no está relacionado con la cantidad de componente separado (Mennickent et al., 2000).

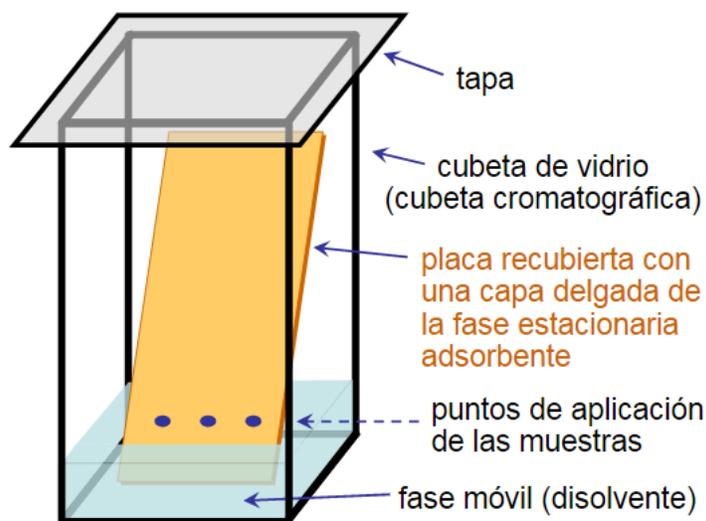


Figura 8. Montaje general de TLC. «Cromatografía en capa fina», 2015)
<https://lidiakonlaquimica.wordpress.com/2015/08/17/cromatografia-en-capa-fina/>

2.2.6.2. Cromatografía de gases acoplado a masas (CG-MS): La cromatografía de gases-masas es una técnica que combina la capacidad de separación que presenta la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Esta combinación permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad. La cromatografía se basa en las diferencias en conductas partitivas de una fase móvil y de una fase estacionaria para separar los componentes en la mezcla. La muestra es transportada por una corriente de gas a través de una columna empacada con un sólido o tal vez recubierta con una película de algún líquido. Debido a su simplicidad, sensibilidad y efectividad para separar los componentes de la mezclas, la cromatografía de gas es una de las herramientas más importantes en química. Es ampliamente usada para análisis cuantitativos y cualitativos de mezclas, para la purificación de compuestos y para la determinación de constantes termoquímicas tales como calores de solución y vaporización, presión de vapor y coeficientes de actividad. (Zambrano & RAMIREZ, 2015)

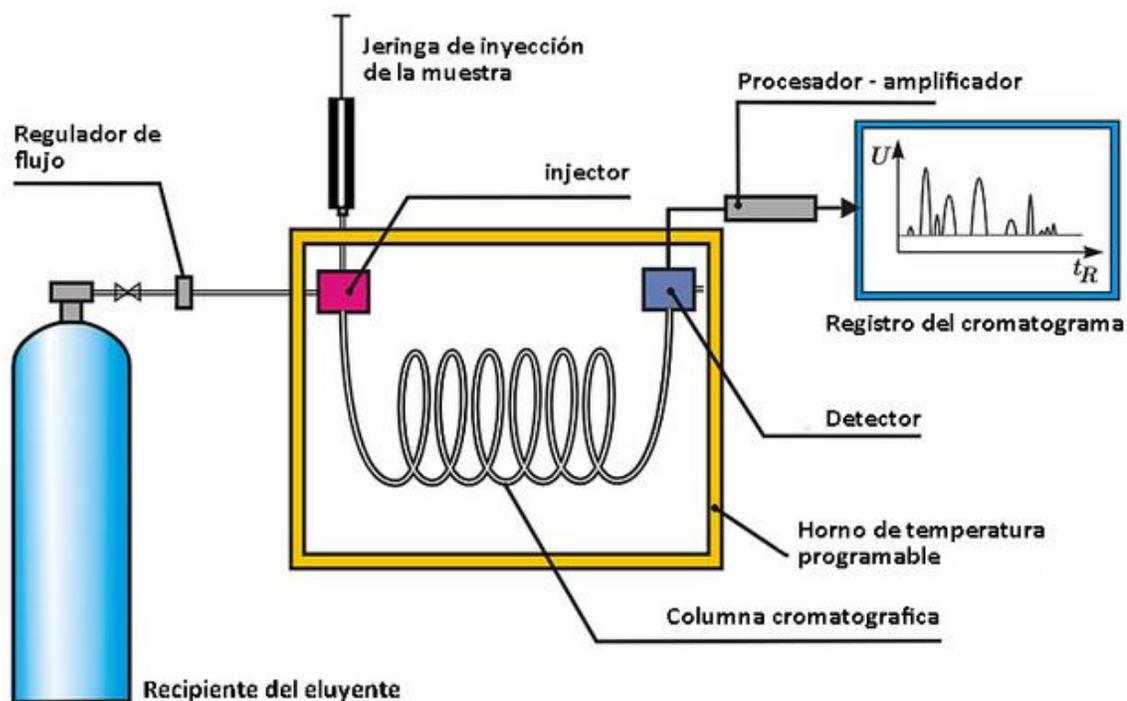


Figura 9. Representación esquemática de un cromatógrafo de gases. Zambrano & Ramírez, 2015.

La espectrometría de masas (MS) utiliza el movimiento de iones en campos eléctricos y magnéticos para clasificarlos de acuerdo a su relación masa-carga. De esta manera la espectrometría de masas es una técnica analítica por medio de la cual las sustancias químicas se identifican separando los iones gaseosos en campos eléctricos y magnéticos. La MS brinda información cualitativa y cuantitativa acerca de la composición atómica y molecular de materiales inorgánicos y orgánicos (Skoog et al., 2001).

2.2.7. *Fusarium sp.*

Fusarium es un género cosmopolita de hongos ascomicetos filamentosos, que incluye muchos patógenos vegetales productores de toxinas de importancia agrícola. Colectivamente, las enfermedades causadas por *Fusarium* incluyen marchitez, tizón, pudrición y canchales de muchos cultivos hortícolas, de campo, ornamentales y forestales en ecosistemas agrícolas y naturales. *Fusarium* también produce una amplia gama de metabolitos secundarios tóxicos (micotoxinas), como tricótesenos y fumonisinas, que pueden contaminar los productos agrícolas, haciéndolos inadecuados para alimentos. Los tricótesenos también pueden actuar como factores de virulencia en las enfermedades de las plantas. Aunque las infecciones oportunistas por *Fusarium* (fusaríais) de humanos y otros animales son relativamente raras, por lo general muestran una amplia resistencia a los medicamentos antimicóticos. *Fusarium* se asocia desproporcionadamente con infecciones fúngicas de la córnea (Ma et al., 2013).

Tabla 2. Taxonomía de *Fusarium* spp

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Nectriaceae
Genero	<i>Fusarium</i>
Especies.	<i>Fusarium</i> spp. <i>Fusarium</i> <i>esquiseti</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium proliferatum</i> <i>Fusarium</i> <i>reticulatum</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium subglutinans</i>

Fuente: Dirección general de sanidad, 2020

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp__ma_z__2020.pdf

2.2.7.1. Especies de *Fusarium* sp. En el género *Fusarium* se han reconocido entre 9 y 78 especies, dependiendo del sistema taxonómico utilizado, el cual se basa principalmente en las características culturales de las colonias y de las esporas del hongo. La clasificación taxonómica del género es bastante controvertida según diversos taxónomos. Snyder y Hansen y Messian y Cassini reconocen nueve especies, Gordon considera 26 especies, Booth 44 especies, Wollenweber y Reinking 65 especies y Gerlach reconoce 78 especies. Esto muestra la complejidad taxonómica del género *Fusarium*; por tal razón, la identificación de las especies debe ser hecha por expertos para evitar errores. (Torres, 2000)

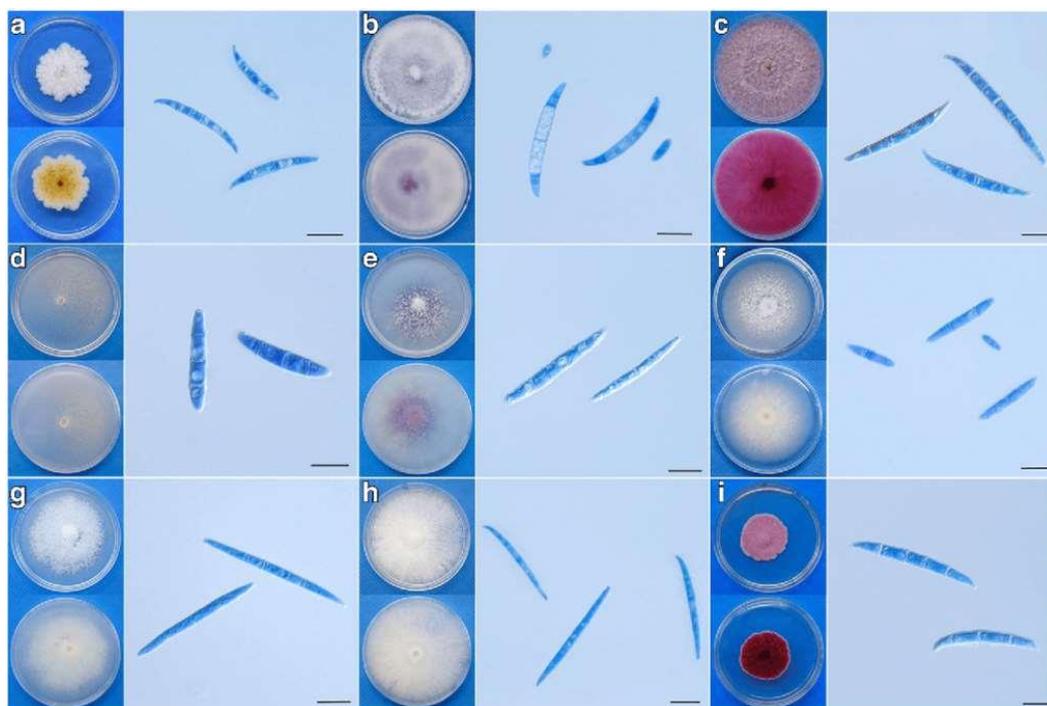


Figura 10. Crecimiento y conidios de diferentes biotipos de *Fusarium sp.*

Fuente: Dirección general de sanidad, 2020

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp_ma_z_2020.pdf

2.2.7.2. Mecanismo de infección. La infección se desarrolla en las raíces de alimentación y en lesiones causadas por la formación secundaria de raíces. Las temperaturas de suelo frías (20 °C) favorecen el desarrollo de la enfermedad. Los marchitamientos de *Fusarium sp.* Son beneficiados por las altas temperaturas del aire y del suelo (24 °C a 30 °C) y la enfermedad puede no ocurrir a bajas temperaturas del suelo (por debajo de 20 °C). Una planta infectada puede permanecer sin síntomas a temperaturas más bajas



Figura 11. Marchitamiento y defoliación en cultivo de naranjo variedad valenciana. Ortiz-Martínez et al., 2022.



Figura 12. Síntomas de marchitamiento por *Fusarium* spp en banano. («Marchitamiento del banano o Panamá disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)», s. f.)

2.3. Marco Legal

Constitución política de 1991, es una Constitución "Verde" porque consagra el derecho a gozar de un ambiente sano, estableciendo como deberes y derechos del estado de "Proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las áreas de especial importancia ecológica y fomentar la educación para el logro de estos fines" (Artículo 79), además deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer sanciones legales y exigir la relación de daños causados.

Ley 1518 de 2012. "Por medio de la cual se aprueba el "Convenio Internacional para la protección de las Obtenciones Vegetales", del 2 de diciembre de 1961, revisado en Ginebra el 10 de noviembre de 1972, el 23 de octubre de 1978 y el 19 de marzo de 1991.

Ley 1515 de 2012. "Por medio de la cual se aprueba el "Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines del Procedimiento en materia de Patentes", establecido en Budapest el 28 de abril de 1977 y enmendado el 26 de septiembre de 1980 y su "Reglamento", adoptado el 28 de abril de 1977 y modificado el 20 de enero de 1981 y el 1º de octubre de 2002.

Decreto 1498 de 2008. "Por medio del cual se reglamenta la Política de Cultivos Forestales Comerciales.

Ley 1159 de 2007. "Por medio de la cual se aprueba el "Convenio de Rotterdam para la Aplicación del Procedimiento de Consentimiento Fundamentado previo a ciertos Plaguicidas y Productos Químicos Peligrosos, Objeto de Comercio Internacional", hecho en Rotterdam el diez (10) de septiembre de mil novecientos noventa y ocho (1998).

Decreto 4741 de 2005. “Por medio del cual se reglamenta parcialmente la prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral.”

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Localización y materiales

3.1.1. Localización

El trabajo se realizó en el laboratorio de investigación PLANTAE adscrito a la Facultad de Ciencias Básicas, ubicado en el segundo piso de los laboratorios de Biología de la universidad Francisco de Paula Santander (Lab 201).

3.1.2. Materiales

Material Vegetal. Se trabajó con duramen de *Platymiscium pinnatum* colectadas en El Triángulo ubicada geográficamente en la vereda Los Peracos corregimiento Buena Esperanza, municipio de san José de Cúcuta, ubicada en la siguientes coordenadas a 7°57'51.3"N 72°29'54.0"W, a 320 s.n.m con una temperatura promedio 33 °C y una humedad relativa de 75%. Para la investigación se utilizaron 1000 g en peso de duramen de la planta.

Material de laboratorio. Balanza analítica, frascos de 200 mL con tapa hermética, tubos de ensayo, Erlenmeyer de desprendimiento lateral, embudo de Bucher, bomba de vacío, tubos eppendorf de 1000 µL, placas de vidrio para TLC, cubeta de vidrio para TLC, micropipetas de (1000 µL y 200 µL), tubos capilares, Beaker de (1000 mL, 500 mL, 100 mL y 50mL), probetas de 100 mL y 10 mL, rota vapor, campana extractora, fuente de luz ultravioleta (UV), estereoscopio, microscopio, cámara digital.

Reactivos. Etanol 80%, acetato de plomo al 4%, ácido acético, éter de petróleo, hexano, ácido sulfúrico 18 M, cloruro férrico anhídrido, agua destilada, cinta de magnesio, ácido clorhídrico 10%, ácido clorhídrico diluido, zinc en polvo, hidróxido de sodio diluido, reactivo Molish, hidróxido de potasio, reactivo Valser, reactivo Mayer, reactivo Dragendorff, reactivo Hagger, cloroformo, sulfato de sodio anhídrido, reactivo gelatina-sal 1%, Urea, clorhidrato de

Hidroxilamina/alcohol, hidróxido de potasio/etanol, etanol, metanol HPLC, benceno, hidróxido de amonio, piridina, nitroprusiato de sodio 0,5%, acetato de etilo, vainillina, propanol.

3.2. Metodología

3.2.1. Tipo de Investigación.

El tipo de investigación que se utilizó para el desarrollo del proyecto es de tipo experimental, ya que consiste en someter un objeto de estudio en el análisis y reconocimiento de compuestos, además de la influencia de ciertas variables, en condiciones controladas y conocidas para observar una bioactividad específica.

3.2.2. Diseño experimental.

Dentro de las técnicas utilizadas para la extracción, marchas fitoquímicas preliminares, determinación del porcentaje de abundancia de compuestos mayoritarios presentes en el extracto por Cromatografía de Gases acoplado a Masas y montaje de bioensayos. Se basó en un estudio experimental cualitativo y cuantitativo para evidenciar la mayor actividad antifúngica representada en halos de inhibición generados por el extracto obtenido de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand frente a *Fusarium* sp.

3.2.3. Análisis estadístico.

La parte experimental cualitativa, se presenta la presencia o ausencia de metabolitos secundarios en el extracto del duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand por marchas fitoquímicas y se complementa con el porcentaje de abundancia de compuestos presentes en el extracto por Cromatografía de Gases acoplada a Masas. La parte experimental cuantitativa, que involucra los bioensayos antifúngicos, se llevó a cabo mediante un análisis estadístico que incluyó la prueba de ANOVA (Análisis de Varianza) y la comparación de medias Tukey,

utilizando el programa estadístico XLSTATS 2023. Los tratamientos empleados en este estudio se detallan en la Tabla 3 y cada uno de ellos se replicó tres veces.

Tabla 3. Tratamientos utilizados en la evaluación de los extractos

TRATAMIENTO	NOMBRE TRATAMIENTO
1	Control negativo (agua)
2	Control negativo (etanol)
3	Control positivo (Vitavax)
4	Extracto concentrado 1:0
5	Dilución 1:1
6	Dilución 1:2
7	Dilución 1:3
8	Dilución 1:4
9	Dilución 1:5

Hipótesis nula: El extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand no presenta actividad antifúngica frente al hongo *Fusarium* sp.

Hipótesis alterna: El extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand presenta actividad antifúngica frente al hongo *Fusarium* sp.

Variables. Las variables planteadas en esta propuesta contribuirán a la determinación de que la especie *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand tiene propiedades antifúngicas.

- **Dependiente.** Tamaño del halo de inhibición medido en milímetros (mm).
- **Independiente.** Microorganismo y diluciones del extracto.

3.2.4. Metodología Experimental

3.2.4.1. Obtención del extracto. Se utilizó 100 gramos de material vegetal seco (duramen) y libre de polvo en 200 mL de etanol y metanol (Merck KGaA). Se dejó en agitación

por 72h en oscuridad en un SHAKER (MAXQ 4450) a 35°C con 100 rpm. Posteriormente el extracto obtenido se filtró al vacío con papel filtro (Qual. dia. 125mm, BOECO GERMANY) utilizando una bomba de vacío (MEDI-PUMP 33,8" DE MERCURIO DOSIVAC). El extracto etanólico de peraco, se concentrará a presión reducida (ROTAVAPOR IKA® RV 10 CONTROL) a 50 rpm con 150 mbar y 40°C (**Figura 4**). El extracto concentrado se guardó en frascos ámbar a 4°C hasta la realización de sus respectivos análisis para caracterización fitoquímica preliminar, identificación de los compuestos mayoritarios por cromatografía de gases acoplada a masas (CG-MS) y ensayos de actividad antifúngica.

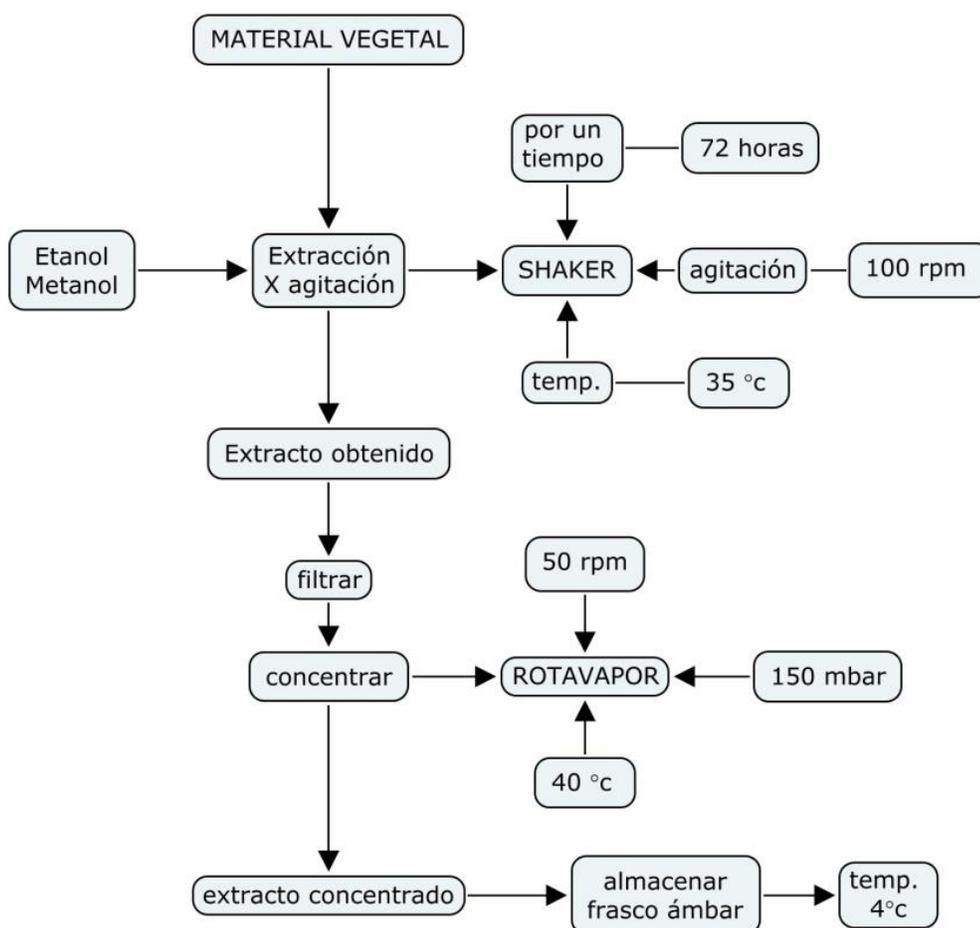


Figura 13. Extracción y concentración del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum jacq.*
Esquema: Abril, F., 2019

3.2.4.2. Marcha fitoquímica. Luego de la preparación de los extractos etanólico y metanólico del duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand, se sometió a la marcha fitoquímica preliminar, realizando diferentes ensayos mediante reacciones de identificación, por aparición o no de color o precipitados, y utilizando la técnica de cromatografía de capa fina (TLC), para determinar la presencia o no de metabolitos, basado en diferentes autores (Palomino & Calderón, 1972) (Cassiran, 2015) (Rojas et al., 2008) (Jara Beltrán, 2014) (Figura 13). Se realizarán pruebas específicas para cada metabolito secundario (Tabla 4.)

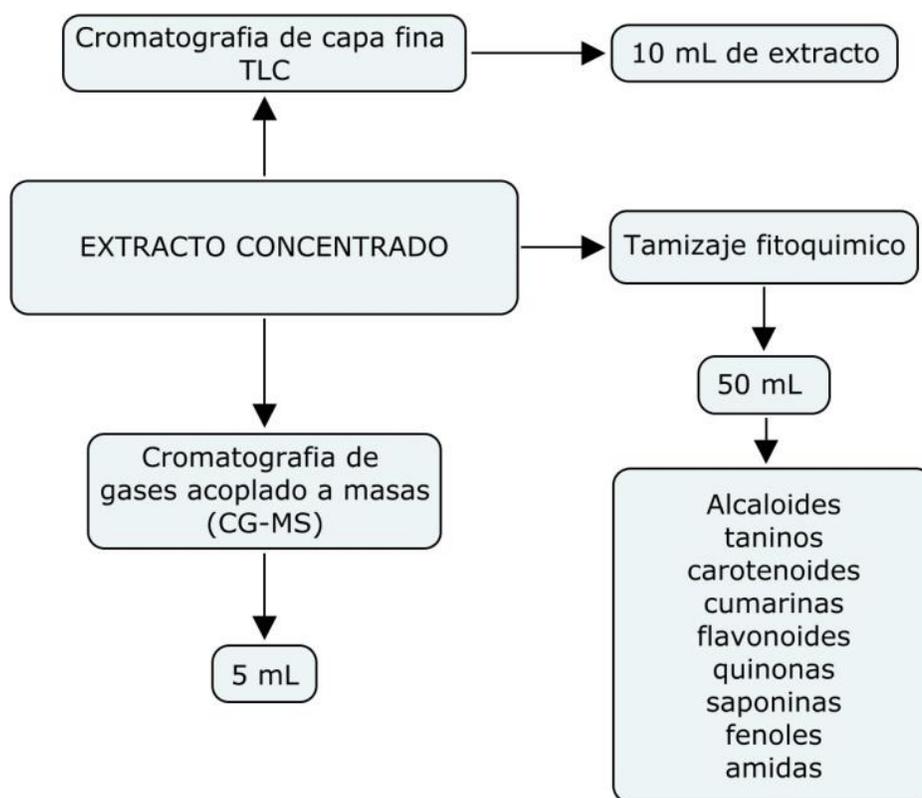


Figura 14. Identificación de metabolitos secundarios. Esquema: Abril, F., 2019

Tabla 4. Metabolitos secundarios, reactivos e indicador de presencia

METABOLITO	REACTIVO	INDICADOR
Antocianinas	NaOH y HCl diluido.	Cambio leve de coloración y pH.
Fenoles	FeCl ₃	Cambio de color
Esteroides	Lieberman- Buchard	cambio de color
Amidas	Lugol	cambio de color
Taninos	Reacción de Stiancy FeCl ₃	Coloración y presencia de precipitado.
Saponinas	Agitación	Aparición de espuma con 5 mm de altura
Cumarinas	KOH – luz UV 365	Fluorescencia azul o verde
Alcaloides	Valser, Mayer, Dragendorff y Hager	Presencia de precipitado

3.2.4.3. Separación de metabolitos por capa fina. Se tomaron alícuotas de 500µL de extracto para cuidadosamente en placas de gel de sílice G60 (Alfa Aesar W05A028). Se utilizarán diferentes fases móviles con el fin de estandarizar el mejor eluyente de separación. Las fases móviles que se utilizaron fueron, hexano-acetato de etilo (95:5 v/v), acetato de etilo-propanol (9:1) y éter de petróleo-acetato de etilo (7:3). Las placas corridas con el extracto se revelaron con luz ultravioleta a 254 nm y 365 nm con el fin de evidenciar la presencia de algunos metabolitos secundarios en el extracto etanólico de duramen.

3.2.4.4. Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía de gases acoplada a masas GC-MS. Del duramen de *Platymiscium pinnatum* (Jacq) Dugand se obtuvo un extracto con metanol (HPLC) al 80%, se realizó filtración y concentración a presión reducida. Del concentrado obtenido se tomaron 5 mL, se pasó por filtro de 45µm y posteriormente se guardó en un frasco ámbar para su análisis por cromatografía de gases acoplada a masas GC-MS

en el Laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigación de Biomoléculas CROM-MASS de CENIVAM, Universidad Industrial de Santander (UIS), sede Bucaramanga.

3.2.4.5. Preparación de las cepas de *Fusarium sp.* La actividad de duramen de *P. pinnatum* se evaluara en cepas aisladas de *fusarium sp* mediante el método descrito por (Velásquez et al., 2006). Antes de realizar el ensayo de actividad antifúngica, se aisló la cepa de un fruto infectado de tomate de árbol en la localidad de Cúcuta. Tomando un pedazo de 3 a 4 mm del fruto infectado, desinfectando en inmersión de hipoclorito de sodio al 4%, etanol al 75% y agua destilada, con tiempo de inmersión variable. Se toman los pedazos desinfectados y se siembra en cajas Petri con agar PDA, para crecimiento. Se tomó fragmentos del micelio del microorganismo y se siembro en cajas Petri con agar PDA y antibiótico para evitar contaminación con bacterias.

3.2.4.6. Preparación de las concentraciones del extracto. Se preparó una solución madre de extracto etanólico de 70%v/v, a partir de dicha disolución, se tomaron alícuotas para preparar diluciones a 1:0, 1:1,1:2, 1:3, 1:4 y 1:5; con agua destilada esterilizada. Estas soluciones fueron evaluadas con el hongo *Fusarium sp.* Como control negativo se usó agua.

Los controles positivo para *Fusarium sp.*, se utilizó vitavax (fmb) a 250, 500, 1000, 2000 y 4000 mg/L respectivamente. De las anteriores concentraciones se empleó la concentración de 250 mg/L para la evaluación antifúngica del extracto.

3.2.4.7. Siembra y evaluación antifúngica del extracto. Después de realizar el proceso de aislamiento y purificación de las cepas de hongo *Fusarium sp.*, se procedió a la preparación del bioensayo, conformado por los tratamientos en cajas Petri con agar PDA y cloranfenicol, las cuales contenían las cepas del hongo. A continuación, se sumergieron discos de

0,5 cm de papel filtro No.1, en cada una de las soluciones los tratamientos: control positivo, control negativo y diluciones del extracto (Tabla 3), en tubos de Eppendorf durante un período de 5 minutos. Posteriormente, se colocaron estos discos en las cajas de Petri que contienen la cepa del hongo, se dejaron reposar durante 15 minutos. Luego, las cajas se incubaron a una temperatura de 30 °C durante un período de 5 días. Al término de este periodo, se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición resultantes como parte de la evaluación.

Es importante destacar que todos los ensayos se llevaron a cabo con tres réplicas con el fin de asegurar la reproducibilidad y fiabilidad de la metodología empleada

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Obtención de Extracto Vegetal

A partir del duramen de *Platymiscium pinnatum*, se obtuvo un extracto etanólico con el cual se concentró a presión reducida, realizó la marcha fitoquímica y bioensayos evaluando la actividad antifúngica. Adicionalmente, un extracto reducido se llevó a sequedad y se retomó en metanol de grado HPLC, con el cual se determinó los compuestos mayoritarios presentes por cromatografía de gases acoplado a masas (CG-MG).

4.2. Caracterización Fitoquímica

El análisis fitoquímico preliminar de duramen de *Platymiscium pinnatum*, se realizó empleando el extracto de duramen en diferentes solventes, esto permitió resolver la interferencia generada por la coloración roja intensa el extracto etanólico (Figura15) en las pruebas preliminares, debido a esto se empleó un medio acuoso para algunas pruebas fitoquímicas como la de esteroides y amidas, todas estas pruebas de identificación de metabolitos secundarios, se realizó siguiendo las metodologías y pruebas cualitativas propuestas por (Palomino & Calderón, 1972) (Cassiran, 2015) (Rojas et al., 2008) (Jara Beltrán, 2014).



Figura 15. Extracto etanólico de duramen de peraco (*Platymiscium pinnatum*).
Fotografía: Abril, F., 2019

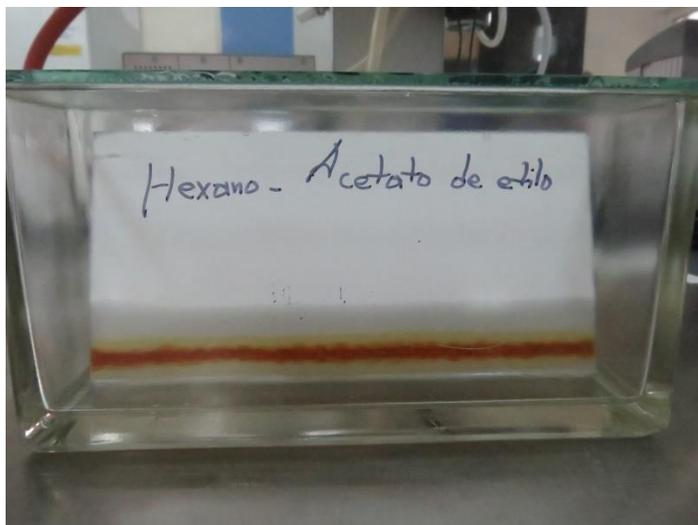


Figura 16. Evaluación de solventes en cromatografía de capa fina (TLC).
Fotografía: Abril, F., 2019

Mediante un perfilamiento cromatográfico por TLC (cromatografía de capa fina) del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* (peraco), empleando distintos solventes y combinaciones de estos como fácul móvil, en búsqueda de una separación de los distintos metabolitos; la mejor separación se obtuvo empleando hexano: acetato de etilo en una relación de 95:5 Figura 15. Una vez la separación de los metabolitos visualizados en UV con longitudes de onda de 302 y 365 nm como se presenta en la figura 17. Las coloraciones azul celeste observadas indican la presencia de cumarinas y taninos, las coloraciones azules indican la presencia de antocianinas, flavonoides lo cual se confirma en la marcha fitoquímica reflejados en la tabla 5.

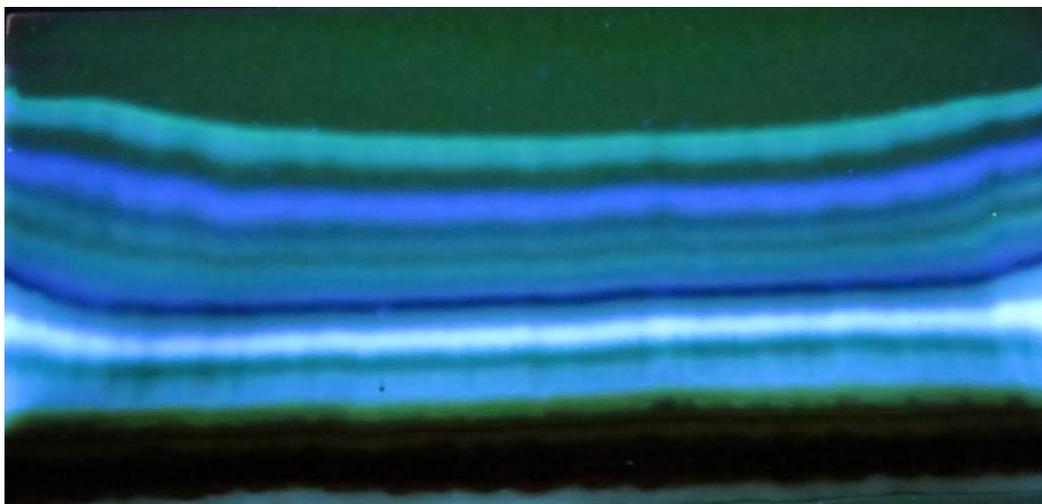
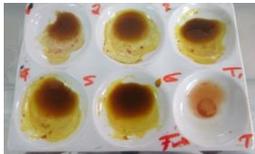
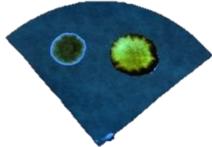
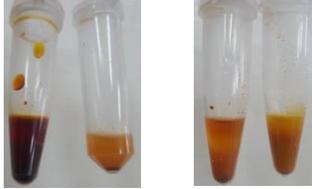


Figura 17. Visualización de placa TLC (cromatografía de capa fina) a 254 nm.).
Fotografía: Abril, F., 2019

Los resultados obtenidos en la caracterización fitoquímica del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum*, los metabolitos secundarios identificados incluyen alcaloides, fenoles como las cumarinas y taninos (Tabla 4). No existen reportes de investigación que evidencien análisis del duramen de éste maderable en cuanto a análisis de presencia de metabolitos.

Se han realizado estudios de extractos de duramen de maderables latifoliadas: *Handroanthus serratifolius*, *Centrolobium paraense* y *Tectona grandis* frente a hongos de pudrición marrón y blanca presentes en el *Pinus caribaea*, generando un efecto protector atribuyéndose a varios factores, estos factores incluyen la complejidad y diversidad de los compuestos químicos presentes en estos extractos, así como la alta permeabilidad de la madera de *Pinus caribaea*, lo que facilita la alcanzar niveles elevados de retención y protección en la madera de *P. caribaea*, pero no se realiza en este estudio un análisis fitoquímico de los maderables (Syofuna et al., 2012)

Tabla 5. Metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* por medio de pruebas fitoquímicas específicas.

METABOLITOS	REACTIVO	INDICADOR	ENSAYO	EVIDENCIA
Antocianinas	NaOH y HCl Diluidos	Cambio de coloración y pH	+	
Fenoles	FeCl ₃	Cambio de color	+	
Esteroides	Lieberman-Buchard	Tonalidad rosada.	+	
Amidas	Lugol	Tonalidad anaranjada.	-	
Taninos	FeCl ₃	coloración verde	+	
	Reacción de Stiancy	Precipitado		
Saponinas	Espuma	Espuma de 5 nm	-	
	Rosenthaler	Color violeta		
Cumarinas	KOH + Fluorescencia UV a 365 nm	Fluorescencia	+	
Alcaloides	Draggendorff, Mayer, Valser, Hagger	Precipitado	+	

La importancia de los compuestos evidenciados en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum*, radica en compuestos fitoquímicos bioactivos. Se ha documentado que los flavonoides, fenoles, taninos, esteroides, cumarinas y alcaloides constituyen la base de muchos medicamentos los cuales poseen diversos mecanismos de acción, lo que sugiere un considerable potencial en plantas como fuente de nuevos fármacos (Avalos-Soto *et al.*, 2014). Estos metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas han sido tradicionalmente utilizados para tratar una variedad de afecciones, como inflamaciones, infecciones, fiebre, enfermedades de la piel, trastornos dentales, así como para su uso como inmunomoduladores, antiinflamatorios, antihiper glucémicos, antiulcerosos, antimaláricos, antifúngicos, antibacterianos, antivirales y antioxidantes. Además, algunos se les han atribuido propiedades antimutagénicas y anticancerígenas (Subapriya R y Nagini S, 2005).

Por lo anterior, la presencia de flavonoides, fenoles, taninos, esteroides, cumarinas y alcaloides en la marcha fitoquímica realizada al extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* (Tabla 4.), indica que tienen moléculas bioactivas dentro del grupo de metabolitos secundarios. Estas moléculas podrían poseer propiedades específicas, en este caso, de naturaleza antifúngica. Para la identificación precisa de las moléculas presentes en algunos de estos grupos de metabolitos secundarios, se consideró esencial la realización de un análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

4.3. Cromatografía de Gases Acoplado A Masas (GC-MS)

El análisis mediante GC-MS se llevó a cabo en el Laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigación de Biomoléculas CROM-MASS, ubicado en la Universidad Industrial de Santander (UIS), sede Bucaramanga. En este análisis, se utilizó el extracto metanólico de grado HPLC (80%) obtenido a partir del duramen de *Platymiscium pinnatum* y se aplicó la técnica de

microextracción en fase sólida (SPME) con monitoreo en fase vapor (headspace). Para este propósito, se empleó una columna de fibra de sílice fundida recubierta con PDMS/DVB de un espesor de 65 μm . El cromatograma se generó utilizando un cromatógrafo de gases Agilent Technologies AT 6890 Series Plus, en conjunto con un detector de masas MSD 5973, operando en el modo de barrido completo de radiofrecuencia. La columna utilizada en el análisis fue una DB-5MS (5% fenil-poli (metilsiloxano)) con dimensiones de 60 mm x 0.23 mm x 0.25 mm. La inyección se realizó en modo Split (30:1) utilizando el dispositivo de SPME, y se llevaron a cabo búsquedas en las bases de datos de Adams, Wiley y NIST para la identificación de los compuestos.

En la Tabla 6, se presentan los porcentajes de abundancia de los compuestos identificados mediante Cromatografía de Gases acoplada a masas (CG-MS) en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum*.

Tabla 6. Identificación presuntiva, tiempos de retención (tR), y cantidad relativa (%) de los componentes presentes en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* por GC-MS

tR / min	Identificación tentativa	Cantidad relativa GC, %
45,18	Eudesmato de metilo	0,8
51,18	Escoparona	48,2
62,54	Homopterocarpin	16,3
63,54	Medicarpin	20,1

La escoparona, es el compuesto mayoritario presente en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* con un porcentaje de cantidad relativa de 48,2% y un tiempo de retención de 51,18 minutos, como se observa en el cromatograma generado del análisis por cromatografía de gases (Figura 18).

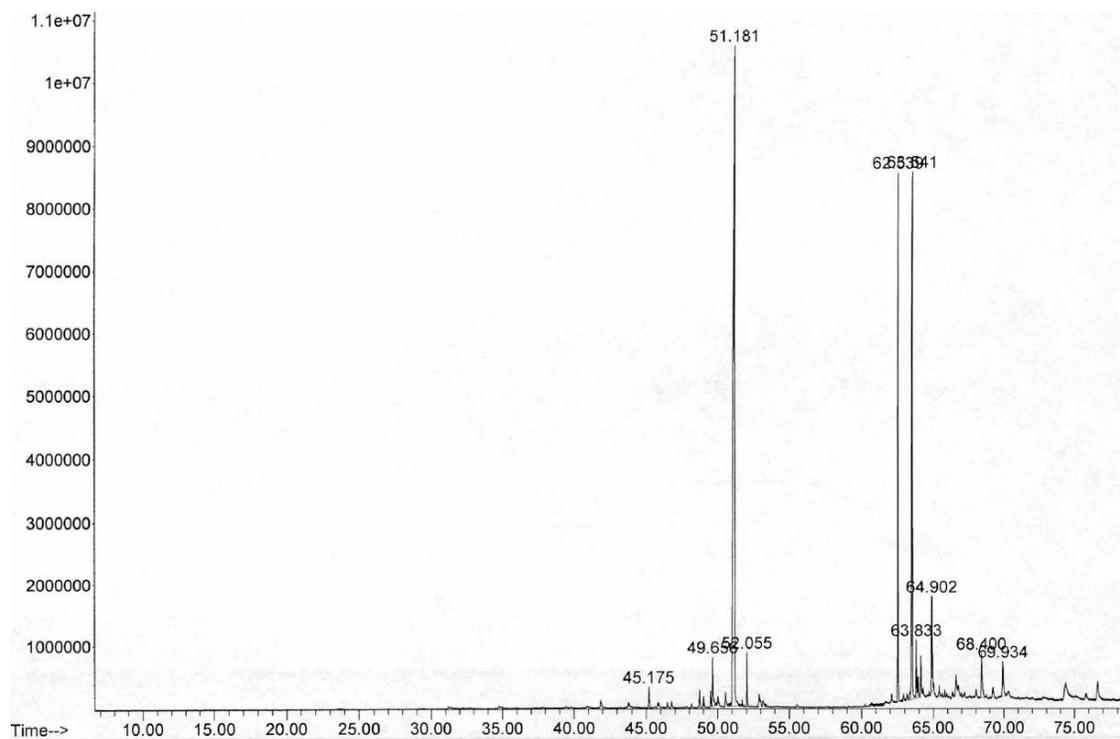


Figura 18. Cromatógrama del extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* por GC-MS

La escoparona (6,7-dimetoxicumarina), es una cumarina que pertenece al grupo de los metabolitos secundarios presentes en las plantas. Las cumarinas son compuestos químicos que se encuentran en una amplia variedad de plantas y son conocidas por sus propiedades antioxidantes y otras actividades biológicas. Tienen en común la estructura química de 1-benzopiran-2-ona (Castillo & Martínez, 2007) (Figura 19). Estas sustancias son fácilmente identificables debido a su fluorescencia bajo la luz ultravioleta y son generalmente fotosensibles, además de ser principalmente solubles en solventes apolares, como se evidenció en la marcha fitoquímica realizada al extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* (Tabla 4.), presentando una fluorescencia verde, confirmando así, la presencia de cumarinas e identificando por cromatografía de gases, la cumarina escoparona.

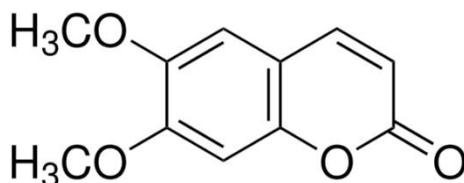


Figura 19. Estructura química de la cumarina, Escoparona.
(Sigma-Aldrich. (Fecha de acceso 04-10-2023)
<https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/product/aldrich/254886>

Las cumarinas biosintetizadas en las plantas se almacenan en el interior de las vacuolas, al igual que otros compuestos como los alcaloides, los taninos y los lignanos. Su función principal en las plantas está relacionada principalmente con la defensa, gracias a sus propiedades antimicrobianas, su capacidad para evitar la alimentación de herbívoros, su protección contra radiaciones UV y su inhibición de la germinación de otras plantas competidoras (Stringlis, I.A. *et al.*,2019).

Investigaciones realizadas en extractos metanólicos de *Tagetes lucida* Cav., también conocida como 'pericón' (López, E. et al., 2018), una planta que se encuentra comúnmente en los sistemas montañosos de México en climas templados, se ha descubierto que esta planta herbácea emana un distintivo aroma a anís al ser comprimida. Se comprueba la bioactividad del extracto de *Tagetes lucida* en cuanto a la capacidad de inhibir el crecimiento de diversas bacterias, como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. y *Shigella* sp., así como el hongo *Fusarium*. Este efecto inhibitorio atribuido a la presencia de componentes dimetoxi-fenólicos en el extracto, destacando la escoparona (6,7-dimetoxicoumarina) como responsable de exhibir una notable capacidad de inhibición sobre el crecimiento micelial de *Fusarium*, incluso a dosis de hasta 250 µg mL⁻¹. Esto nos soporta que el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* puede presentar una actividad inhibitoria contra hongos fitopatógenos, debido a que se determinó la presencia de escoparona como compuesto mayoritario (Tabla 5) (Figura 18).

En cuanto a los segundos compuestos en porcentaje de abundancia, se presentan, el homopterocarpin (16,3%) y Medicarpin (20,1%), pertenecen a un subgrupo de compuestos de la categoría de las pterocarpanos derivados de los isoflavonoides, que a su vez son una clase de metabolitos secundarios presentes en plantas. Los pterocarpanos son conocidos por su estructura química específica como base un benzo-pirano-furano-benceno (Figura 21). Se encuentran en algunas plantas leguminosas, donde desempeñan un papel en la protección de la planta contra patógenos y herbívoros (Fedoreyev S.A. *et al.*, 2000).

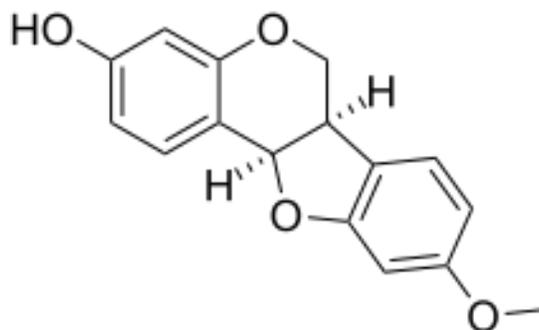


Figura 20. Medicarpin, subgrupo de pterocarpanos del grupo de las isoflavonoides (Fedoreyev S.A. *et al.*, 2000)

En cuanto el compuesto con un menor porcentaje de abundancia determinado en el extracto, es un sesquiterpeno, eudesmato de metilo (Metil 2-(4-metilciclohex-3-enil) propanoato) con 0,8% (Figura 22.) (Tabla 5). Pertenece a un grupo de metabolitos secundarios denominados terpenos presentes en plantas y otros organismos. Estos compuestos son conocidos por sus diversas propiedades biológicas y pueden tener efectos medicinales, aromáticos y defensivos en las plantas que los producen (Sepúlveda Jiménez G. *et al.*, 2003).

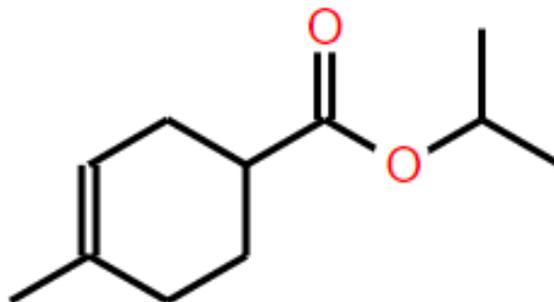


Figura 21. Estructura del eudesmato de metilo, sesquiterpeno que participa en defensa en las plantas.

<https://biomodel.uah.es/en/DIY/JSME/draw.es.htm> (05/10/2023)

El análisis del extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* reveló la presencia dominante de la escoparona, una cumarina con propiedades antioxidantes y biológicas destacadas. Las cumarinas, como la escoparona, son compuestos comunes en plantas y tienen funciones importantes en la defensa de las mismas contra herbívoros, radiaciones UV y microorganismos. Además, este estudio nos proporciona evidencia de que el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* podría tener potencial para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos, similar a lo que se ha observado en otras plantas con contenido de escoparona.

En conjunto, este análisis químico nos proporciona información valiosa sobre los compuestos presentes en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum*, destacando la escoparona como el componente mayoritario con potencial relevancia en la inhibición de hongos fitopatógenos. Estos hallazgos pueden tener implicaciones en la búsqueda de aplicaciones medicinales o agroindustriales de este extracto y en la comprensión de su función en la defensa de la planta contra amenazas externas.

4.4. Bioactividad del Extracto de *Platymiscium Pinnatum* Contra *Fusarium sp.*

La actividad antifúngica del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* contra el hongo *Fusarium sp.*, se presenta claramente en la Figura 23, halos de inhibición en

todos los tratamientos de las diluciones del extracto, lo cual evidencia que los metabolitos secundarios identificados en el extracto de duramen *P. pinnatum* como fue escoparona (48,2%), Medicarpin (20,1%), Homopterocarpin (16%) y Edudesmato de medito (0,8%) poseen un control frente al hongo fitopatógeno *Fusarium*.

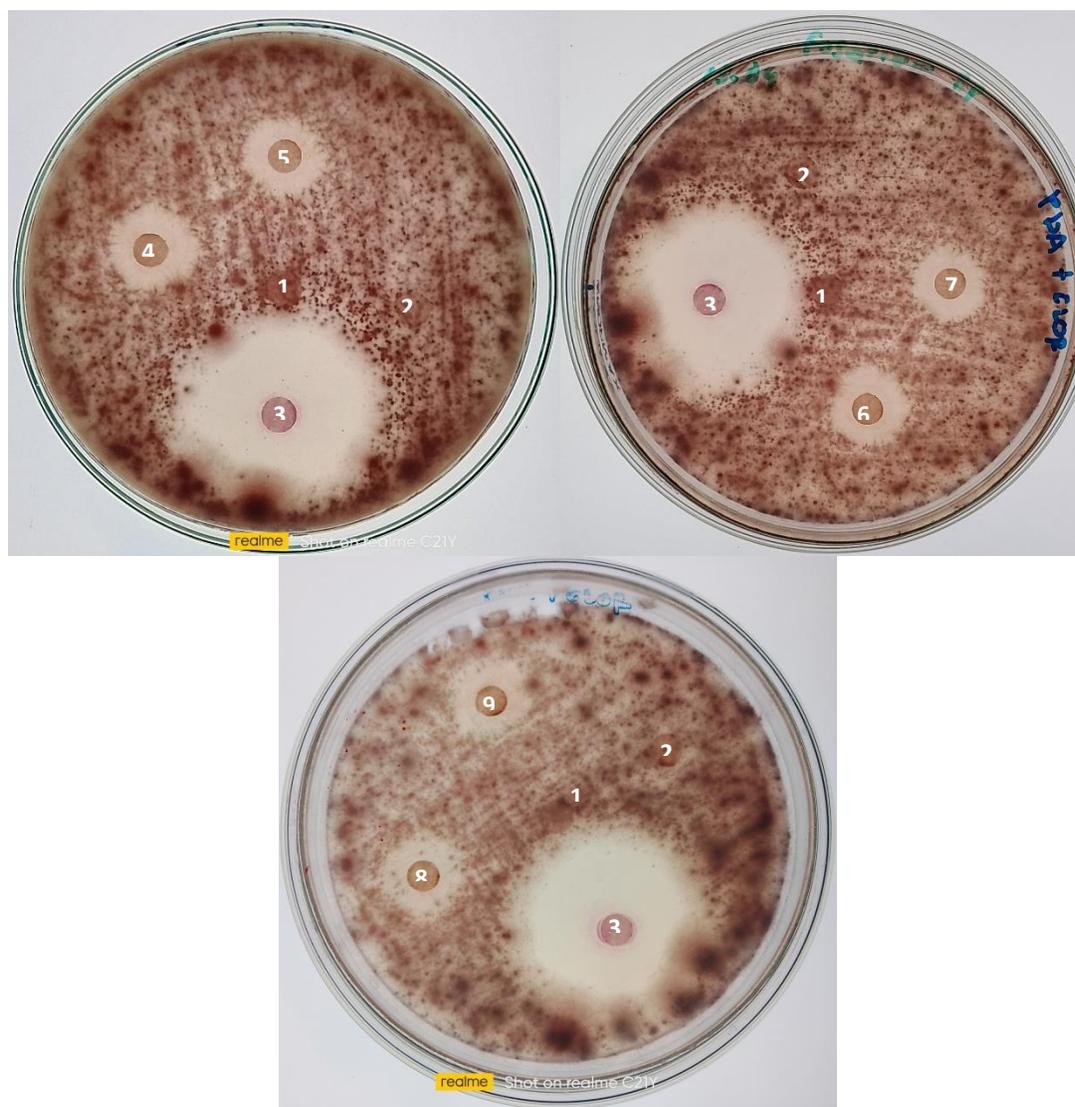


Figura 22. Actividad antifúngica de diluciones del extracto etanólico de duramen del *Platymiscium pinnatum* (extracto: etanol) frente a *Fusarium* sp. 1. Control negativo (agua), 2. Control negativo (etanol), 3. Control positivo (Vitavax), 4. Extracto puro 1:0, 5. Dilución 1:1, 6. Dilución 1:2, 7. Dilución 1:3, 8. Dilución 1:4, 9. Dilución 1:5.

Los resultados del análisis de medias mediante la prueba de Tukey revelan diferencias significativas entre los tratamientos T6, T7, T8 y T9, en comparación con el control positivo (T3) y los controles negativos (T1 y T2). Estas diferencias significativas se observan en relación con los valores medios de los halos de inhibición contra el hongo *Fusarium*, como se muestra en la Figura 24. Además, cabe destacar que las diluciones también presentan diferencias significativas en función de estos valores medios.

El halo de inhibición más alto lo presenta el tratamiento tres (T3) vitavax con 3,6mm como control positivo, comparado con éste, los tratamientos cuatro (T4) y cinco (T5), que corresponden respectivamente a al extracto puro y la dilución 1:1 del extracto de duramen *P. pinnatum* presentan las mayores inhibiciones con valores medios de los halos de 2,5mm y 2,1mm. Las diluciones del extracto de duramen *P. pinnatum* 1:2 (T6), 1:3 (T7) y 1:4 (T8) tiene valores medios de 1.77mm, 1.53mm, y 1.33mm, respectivamente, y no difieren significativamente entre sí. A diferencia del T9, que corresponde a la dilución 1:5 tiene el menor halo de inhibición con un valor medio de 0.97mm y no difiere significativamente de ningún otro tratamiento.

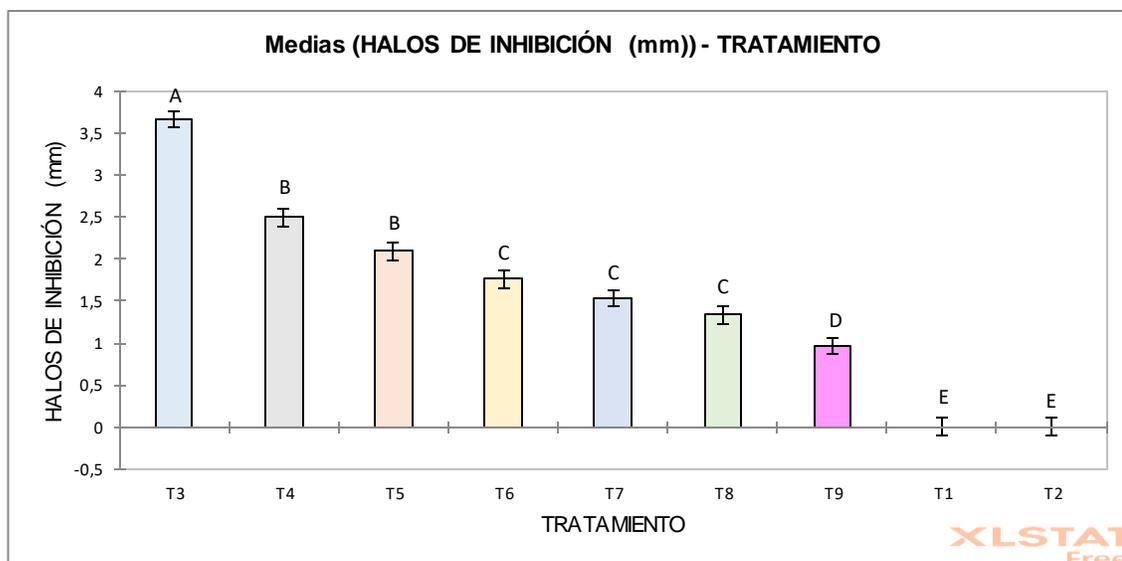


Figura 23. Actividad antifúngica de diluciones del extracto etanólico de duramen del *Platymiscium pinnatum* (extracto: etanol) frente a *Fusarium sp.* 1. Control negativo (agua), 2. Control negativo (etanol), 3. Control positivo (Vitavax), 4. Extracto puro 1:0 5. Dilución 1:1 6. Dilución 1:2, 7. Dilución 1:3, 8. Dilución 1:4, 9. Dilución 1:5. Los datos presentan diferencias significativas $P < 0.05$ con la prueba de Tukey, $n=6$. Las barras representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0.05$.

Relacionando los resultados obtenidos del análisis químico, nos presenta información valiosa sobre los componentes del extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum*, destacando la escoparona como el componente principal con posibles aplicaciones en la inhibición de hongos fitopatógenos. Estos hallazgos podrían tener implicaciones significativas en la búsqueda de usos medicinales o agroindustriales de este extracto y en la comprensión de su función en la protección de la planta contra amenazas externas.

Adicionalmente, la actividad antifúngica del extracto etanólico de duramen de *Platymiscium pinnatum* contra el hongo *Fusarium sp.* se muestra claramente en la Figura 23, con halos de inhibición presentes en todas las diluciones del extracto. Esto respalda la idea de que los metabolitos secundarios identificados en el extracto, como la escoparona (48.2%), el Medicarpin (20.1%), el Homopterocarpin (16%), y el Edudesmato de metilo (0.8%), tienen un efecto significativo en el control del hongo fitopatógeno *Fusarium*. Los resultados nos indican que los

tratamientos T4 y T5, que involucran el extracto puro y una dilución 1:1 del extracto de duramen de *P. pinnatum*, son los más efectivos en la inhibición del crecimiento del hongo *Fusarium*, seguidos por las diluciones 1:2, 1:3 y 1:4. Por otro lado, la dilución 1:5 (T9) muestra la menor capacidad de inhibición en comparación con los demás tratamientos.

5. CONCLUSIONES

El análisis químico del extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* revela que la escoparona es el componente dominante. Esta cumarina posee propiedades antioxidantes y biológicas destacadas. Las cumarinas, incluyendo la escoparona, desempeñan un papel importante en la defensa de las plantas contra herbívoros, radiaciones UV y microorganismos, lo que sugiere una función protectora en *Platymiscium pinnatum*.

Se evidencia que el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* tiene potencial para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos, en particular, el hongo *Fusarium*. Los tratamientos con extracto puro y su dilución 1:1 muestran las mayores inhibiciones en comparación con otros tratamientos.

Las diluciones del extracto de duramen de *P. pinnatum*, 1:2, 1:3 y 1:4 presentan valores medios de inhibición intermedios y no difieren significativamente entre sí, lo que indica una relación dosis-respuesta en la actividad antifúngica.

La dilución 1:5 (T9) exhibe el halo de inhibición más bajo y no difiere significativamente de ningún otro tratamiento, lo que sugiere una disminución significativa en la capacidad de inhibición a esta concentración.

Los resultados destacan la importancia de la escoparona como el componente mayoritario en el extracto de duramen de *Platymiscium pinnatum* y su potencial relevancia en la inhibición de hongos fitopatógenos. Los tratamientos con extracto puro y diluciones 1:1 muestran una fuerte actividad antifúngica, lo que sugiere aplicaciones prometedoras en la agricultura y la comprensión de la función de esta planta en su defensa contra amenazas externas. Sin embargo,

se observa una disminución de la actividad antifúngica en la dilución 1:5, lo que indica la importancia de la concentración en la eficacia de este extracto.

Lista De Referencias

- Ávalos-Soto, J., Treviño-Neávez, J. F., Verde-Star, M. J., Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, A., Moran-Martínez, J., Serrano-Gallardo, L. B., & Morales-Rubio, M. E. (2014). Evaluación citotóxica de los extractos etanólicos de *Azadirachta indica* (A. Juss) sobre diferentes líneas celulares. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 45(3), 39-44.
- Barahona Avalos, E. P., & Guevara Granados, B. G. (2007). Determinación de alcaloides esteroidales en extracto alcohólico del fruto del *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina [Universidad de El Salvador].
<http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/4567>
- Berdegué, Julio A., Anthony Bebbington, Javier Escobal, Arilson Favareto, M. Ignacia Fernández, Pablo Ospina, Helle Munk Ravnborg, Francisco Aguirre, Manuel Chiriboga, y Ileana Gómez. 2012. «Territorios en movimiento». *Dinámicas territoriales rurales en América Latina*.
- Bustos Molina, K. (2014). Caracterización, clasificación y patología de las especies de maderas más usadas en la construcción como elementos estructurales permanentes en la ciudad de Cartagena [Universidad de Cartagena].
<http://190.242.62.234:8080/jspui/handle/11227/246>
- Carrión Jara, A. V., & García Gómez, C. R. (2010). Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica [B.S. thesis].

- Cassiran, L. D. V. (2015). Estudio fitoquímico de los frutos de *Protium tovarense* Pittier (Burseraceae) [Thesis]. <http://saber.ucv.ve/handle/123456789/12179>
- Creus, E. G. (2004). Compuestos fenólicos. *Offarm*, 23(6).
- Fedoreyev, S. A., Pokushalova, T. V., Veselova, M. V., Glebko, L. I., Kulesh, N. I., Muzarok, T. I., Seletskaya, L. D., Bulgakov, V. P., & Zhuravlev, Y. N. (2000). Isoflavonoid production by callus cultures of *Maackia amurensis*. *Fitoterapia*, 71(4), 365-372.
- García del Castillo, E., & Martínez, I. (2007). Manual de fitoterapia. Barcelona, Editorial Masson.
- Garcia, M. G. (2009). BUSCA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DESCARTADOS PELO SETOR MADEIREIRO EM RESÍDUOS. <http://repositorio.inpa.gov.br/handle/123/167>
- González Villa, Á. A. & others. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas [Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales]. <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/>
- Gudiel, L. (2009). Evaluación fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* SW (calahuala). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Licenciatura de Química Farmacéutica. Guatemala, 35-36.

Hernández Medina, C. A. (2016). Especies de *Fusarium* y *Penicillium* asociadas a frutales en los departamentos del Cauca y Valle de Cauca, Colombia [PhD Thesis].

<https://repositorio.unal.edu.co/handle/una/56918>

Jara Beltrán, Á. I. (2014). Análisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de la especie *Piper imperiale* (Piperaceae).

<http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/handle/11158/243>

Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.

López López, E., Peña Ortega, M. G., Colinas León, M. T. B., Díaz Cedillo, F., & Serrato Cruz, M. Á. (2018). Fungistasis del aceite esencial extraído de una población de *Tagetes lucida* de Hidalgo, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2), 329-341.

López Sánchez, M. (2005). Métodos físicos de separación y purificación de sustancias orgánicas.

Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual review of microbiology*, 67, 399-416.

- Martínez, Maby M., Diana M. Ocampo, Jhon H. Galvis, y Andrea Valencia. 2011. «Actividad antibacteriana y citotoxicidad in vivo de extractos etanólicos de Bauhinia variegata L.(Fabaceae)». Revista Cubana de Plantas Medicinales 16(4):313-23.
- Mencías Paredes, J. M. (2015). Separación, Purificación e Identificación de Metabolitos Secundarios de Extracto Etanólico de Colca (*Miconia pseudocentrophora*).
<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/4023>
- Méndez, José Miguel. 2000. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. CATIE.
- Mennickent, S., Vega, M., Godoy, C. G., & Yates, T. (2000). DESARROLLO DE UN METODO POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA INSTRUMENTAL PARA ANALISIS CUANTITATIVO DE ACIDO ACETILSALICILICO. Boletín de la Sociedad Chilena de Química, 45(4), 615-620..
- Palomino, E., & Calderón, E. (1972). Estudio fitoquímico del aceite esencial de *Psidium caudatum* McVaugh. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas, 3(2), 57-74.
- Restrepo, M. L. G. (2010). Fenología reproductiva de especies forestales nativas presentes en la jurisdicción de CORANTIOQUIA, un paso hacia su conservación. Corantioquia.

- Rojas, L. C., Uribe, Y. H., Martínez, N. S., & Niño, D. R. (2008). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia Forestal*, 12, 161-170.
- Sánchez, M. C., Ruiz, L. E., García-Báez, E. V., & Zúñiga, B. R. (2008). *Laboratorio De Química Orgánica Aplicada: Manual De Prácticas*. México DF.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001). *Principios de análisis instrumental*. McGraw-Hill Interamericana de España,.
- Stringlis, I. A., De Jonge, R., & Pieterse, C. M. (2019). The age of coumarins in plant–microbe interactions. *Plant and Cell Physiology*, 60(7), 1405-1419.
- Subapriya, R., & Nagini, S. (2005). Medicinal properties of neem leaves: A review. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5(2), 149-156.
- Syofuna, A., Banana, A. Y., & Nakabonge, G. (2012). Efficiency of natural wood extractives as wood preservatives against termite attack. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 14(2), 155-163.
- Torres, G. A. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía colombiana*, 17(1-3), 11-16.

Velásquez, Jesús, María Elena Toro, Luis Rojas, y Osvaldo Encinas. 2006. «Actividad antifúngica in vitro de los extractivos naturales de especies latifoliadas de la Guayana Venezolana». *Madera y Bosques* 12(1):51-61.

Zambrano, S. L. D., & RAMIREZ, L. J. A. (2015). Desarrollo de la técnica de cromatografía de gases (GC-FID) para la determinación de contaminantes emergentes tipo productos farmacéuticos [PhD Thesis]. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Tecnología Química.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza (halos de inhibición (mm)):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F	p-values signification codes
Modelo	8,000	32,772	4,096	553,025	<0,0001	***
Error	18,000	0,133	0,007			
Total corregido	26,000	32,905				

Calculado contra el modelo

Y=Media(Y)

*Signification codes: 0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ° < 1*

Anexo 2. Medias LS para el factor Tratamiento

Categoría	Media LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
T3	3,667	0,050	3,562	3,771
T4	2,500	0,050	2,396	2,604
T5	2,100	0,050	1,996	2,204
T6	1,767	0,050	1,662	1,871
T7	1,533	0,050	1,429	1,638
T8	1,333	0,050	1,229	1,438
T9	0,967	0,050	0,862	1,071
T1	0,000	0,050	-0,104	0,104
T2	0,000	0,050	-0,104	0,104