

# ÍNDICE

---

	pág.
1.- INTRODUCCIÓN .....	1
2.- OBJETIVOS .....	16
3.- PARTE EXPERIMENTAL .....	17
3.1.- Mantenimiento y propagación de los cultivos de <i>A. tagetica</i> .....	19
3.1.1.- Cultivo masivo de <i>A. tagetica</i> en el medio líquido CZ8 .....	20
3.1.2.- Comparación del crecimiento de <i>A. tagetica</i> en 14 medios líquidos de cultivo .....	20
3.1.3.- Comparación del crecimiento de <i>A. tagetica</i> en los medios CET y CZ8 a tres intervalos de tiempo .....	21
3.2.- Procedimiento de cosecha y extracción del hongo .....	21
3.3.- Bioensayo de gota .....	23
3.3.1.- Filtrados y fases acuosas .....	23
3.3.2.- Extractos orgánicos .....	24
3.3.2.1.- En suspensión .....	24
3.3.2.2.- En gel de sílice .....	24
3.4.- Partición del extracto orgánico crudo .....	25
3.5.- Purificación de MAT-6B .....	26
3.5.1.- Fracción MAT-7C .....	27
3.5.2.- Fracción MAT-7E .....	28
3.6.- Purificación del blanco .....	29
3.6.1.- Fracción MAT-9B .....	29
3.6.2.- Fracción MAT-9C .....	30
3.7.- Purificación de MAT-7K .....	30
3.8.- Acetilación de PAT-8 .....	32
3.9.- Hidrólisis de PAT-8 .....	34

	pág.
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
5.- CONCLUSIONES .....	72
6.- APÉNDICE I .....	74
7.- APÉNDICE II .....	79
8.- REFERENCIAS .....	87

# RESUMEN

---

El hongo *Alternaria tagetica* es el agente causal del "tizón temprano" en plantas de cempazúchitl (*Tagetes erecta* L.). La infección causada por este patógeno se caracteriza por la aparición de manchas necróticas rodeadas de un halo clorótico en tallos, hojas y flores de la planta y se desarrolla debido a que el patógeno produce metabolitos fitotóxicos que le permiten romper las barreras defensivas de la planta.

El presente estudio consta de dos partes. La primera parte de este trabajo tuvo como objetivo detectar, purificar e identificar metabolitos fitotóxicos presentes en cultivos del hongo *A. tagetica*. Para esto el patógeno fue cultivado en medio CZ8 estacionario, durante 21 días; al término de este tiempo, los cultivos fueron filtrados y los filtrados extraídos con acetato de etilo, obteniéndose los correspondientes extractos orgánicos crudos. Los extractos crudos fueron sometidos a una partición con disolventes de polaridad ascendente y las fracciones obtenidas fueron purificadas por cromatografía líquida al vacío. De esta manera se obtuvieron tres fracciones principales identificadas como una mezcla de esteroles [estigmasterol (11), g-sitosterol (12) y ergosterol (13)], una mezcla de ácidos grasos [ácido hexadecanoico (14) y ácido Z-9-octadecenoico (15)] y el  $\alpha$ -L-ramnósido de 3-O-kaemferilo (17a). Tanto la mezcla de esteroles como la de ácidos grasos se identificaron como provenientes del medio de cultivo, sugiriendo que el crecimiento del patógeno en medio CZ8 no resulta en un consumo total de los nutrientes.

Como consecuencia de los resultados anteriores, se inició la segunda parte de este trabajo cuyo objetivo fue optimizar el cultivo del hongo en medio líquido. Para esta parte del trabajo se evaluó el crecimiento del patógeno en 7 medios líquidos de cultivo, tanto definidos como indefinidos, y cada uno con y sin la adición de una infusión de *T. erecta*. Como criterio de evaluación se tomaron la fitotoxicidad, el rendimiento del extracto orgánico crudo, el peso seco del micelio y el tiempo de crecimiento del hongo. Los resultados obtenidos mostraron que los extractos orgánicos crudos de cultivos en los medios CZ8 y CET presentaron la mayor actividad fitotóxica, un mayor rendimiento y un tiempo de crecimiento adecuado.

Para evaluar el tiempo óptimo de crecimiento del patógeno en los medios CZ8 y CET, se investigaron tiempos de incubación de 2, 4 y 6 semanas, siguiendo los criterios de evaluación ya mencionados. Los resultados mostraron un mayor peso seco de micelio y un mayor rendimiento de extracto orgánico crudo en el medio CET. Asimismo, mientras que los extractos orgánicos de los cultivos en medio CZ8 ocasionaron clorosis a las dos semanas, misma que desapareció a las 4 semanas; los extractos orgánicos de los cultivos en el medio CET mostraron necrosis desde las 4 semanas de incubación.