

USO DE ACEITES ESENCIALES COMO ANTIFÚNGICOS PARA LA POTENCIACIÓN DE UN COMPUESTO AZÓLICO ANTE HONGOS FITOPATÓGENOS

ANDREA B. GONZÁLEZ 221208, VALERIA SAN ROMAN 22301, LISSETHE VALENZUELA 221182, ROCÍO US 221107. FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES. QUÍMICA ORGANICA III - MICOLOGÍA

INTRODUCCIÓN

Se sintetizó una molécula antifúngica a partir de clotrimazol y timol que provienen de los óvulos de las mujeres y del aceite esencial de tomillo respectivamente. Su efectividad fue evaluada a partir de los diámetros de inhibición en hongos fitopatógenos: *Fusarium spp.*, *Colletotrichum spp.* y *Nigrospora spp.* Además, se evaluó su toxicidad en semillas de rábano (*Raphanus sativus*) en la etapa de germinación. Se enfatizó la búsqueda de nuevos agentes antifúngicos que sean amigables con el medio ambiente y de amplio espectro de acción que presente una resistencia mínima.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El compuesto azólico sintetizado a partir de Clotrimazol y Timol presenta una actividad antifúngica efectiva contra hongos fitopatógenos de los géneros *Fusarium spp.*, *Colletotrichum spp.* y *Nigrospora spp.*, sin presentar un nivel de toxicidad significativo en semillas de *Raphanus sativus*?

HIPÓTESIS

La unión covalente entre un compuesto azólico potenciado y una molécula proveniente de aceites esenciales dará como resultado una molécula antifúngica con mayor capacidad de inhibición que los compuestos separados individualmente.

RESULTADOS

Cuadro No. 1 Diámetro del crecimiento de *Colletotrichum spp.* ante una serie de concentraciones del antifúngico sintetizado.

Día de incubación	Día 5		Día 10	
	Media diámetro (Cm)	% Crecimiento	Media diámetro (Cm)	% Crecimiento
1:10 (1%)	(2.9 ± 0.12)	67.8	(5.7 ± 0.90)	36.7
1:100 (0.1%)	(4.5 ± 0.50)	50.0	(7.9 ± 0.15)	12.2
1:1000 (0.01%)	(4.6 ± 0.53)	48.9	(8.0 ± 0.25)	11.1
1:10,000 (0.001%)	(3.8 ± 0.29)	57.8	(8.1 ± 0.26)	10.0

Cuadro No. 2 Diámetro del crecimiento de *Fusarium spp.* ante diferentes concentraciones del antifúngico sintetizado.

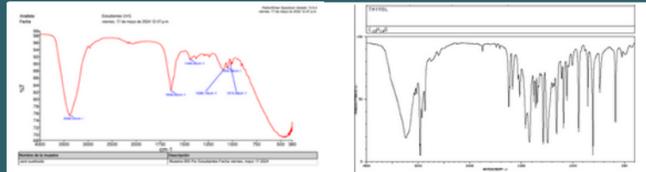
Día de incubación	Día 5		Día 10	
	Media diámetro (Cm)	% Crecimiento	Media diámetro (Cm)	% Crecimiento
1:10 (1%)	(3.3 ± 0.15)	63.3	(7.4 ± 0.26)	17.8
1:100 (0.1%)	(3.4 ± 0.10)	62.2	(7.5 ± 0.35)	16.7
1:1000 (0.01%)	(3.6 ± 0.53)	60.0	(6.1 ± 1.10)	32.2
1:10,000 (0.001%)	(3.3 ± 0.25)	63.3	(5.9 ± 0.70)	34.4

Cuadro No. 3 Características macroscópicas del crecimiento de *Nigrospora spp.* ante diferentes concentraciones del antifúngico sintetizado.

Parámetro	1:10 (1%)	1:100 (0.1%)	1:1000 (0.01%)	1:10,000 (0.001%)
Forma	Filamentosa	Filamentosa	Filamentosa	Filamentosa
Elevación	Elevada	Elevada	Elevada	Elevada
Margen	Filamentoso	Filamentoso	Filamentoso	Filamentoso
Textura	Dura	Dura	Dura	Dura
Color en la superficie	Negro opaco	Negro oscuro	Negro claro y marrón	Marrón claro
Color en el reverso	Negro opaco	Negro oscuro	Marrón oscuro/Negro	Marrón/Negro claro
Difusión del pigmento	Pigmentada, negro en el centro y negro opaco en las orillas	Pigmentada, negro oscuro, marrón ligero en las orillas	Pigmentada, negro oscuro en el centro, marrón en las orillas	Pigmentada, negro en el centro, marrón claro en las orillas
Tamaño	Grande	Grande	Grande	Grande

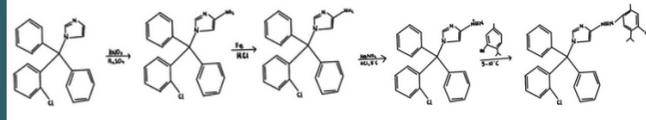
Cuadro No. 4 Picos característicos en el espectro infrarrojo de la molécula sintetizada

Longitud de onda molécula sintetizada (cm-1)	Longitud de onda Timol (cm-1)	Longitud de onda Clotrimazol (cm-1)	Grupo funcional característico
3390.54	3236	---	Grupo hidroxilo
---	---	500	Grupo halógeno
1015 a 1440	807 a 1622	1000 a 1500	Aromáticos



Cuadro No. 5 Características macroscópicas de las semillas de rábano (*Raphanus sativus*) en los días de inspección.

Control	Día 3	Día 5	Día 7
Positivo	No presentó ningún crecimiento	No presentó crecimiento, coloración del centro del algodón oscura	Presentó ligero crecimiento, coloración del centro del algodón oscura y verde, presencia de raíces
1:10 (1%)	No presentó crecimiento, coloración del algodón más opaca	No presentó crecimiento, coloración del algodón opaca	Presentó ligero crecimiento, coloración del algodón opaca oscura, presencia ligera de raíces
1:100 (0.1%)	No presentó ningún crecimiento	No presentó ningún crecimiento	Presentó crecimiento, coloración del centro del algodón oscura y verde, presencia ligera de raíces
1:1000 (0.01%)	No presentó ningún crecimiento	No presentó ningún crecimiento	Presentó crecimiento, coloración del centro del algodón oscura y verde, presencia ligera de raíces
1:10000 (0.001%)	No presentó ningún crecimiento	No presentó ningún crecimiento	Presentó crecimiento, coloración del centro del algodón oscura y verde, presencia ligera de raíces



OBJETIVOS

Objetivo General

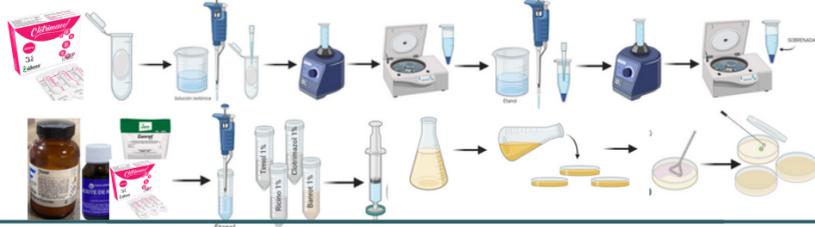
Sintetizar un compuesto azólico a partir de Clotrimazol y Timol para evaluar su actividad antifúngica en hongos fitopatógenos.

Objetivos específicos

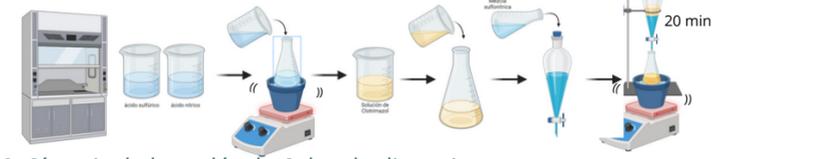
- Ofrecer una nueva propuesta de antifúngico potenciado empleando recursos naturales al combinar los conocimientos de los cursos de Micología y Orgánica 3 para combatir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos.
- Comparar las actividades antifúngicas a diferentes concentraciones para evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI)
- Caracterizar el compuesto sintetizado con espectrometría infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

METODOLOGÍA

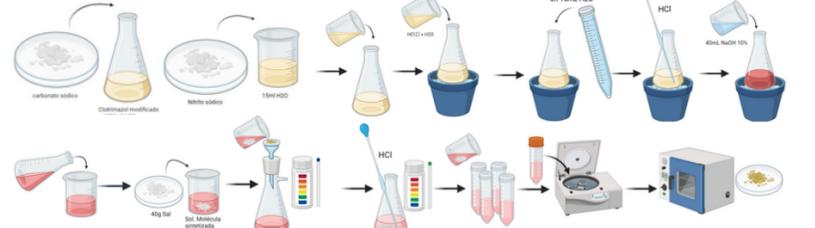
1. Preparación de medios y Soluciones



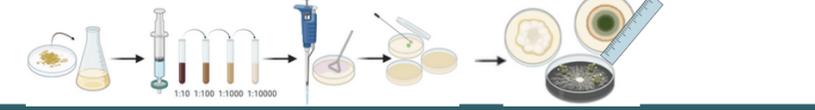
2. Síntesis de la molécula-Nitración y Reducción



3. Síntesis de la molécula-Sales de diazonio



4. Soluciones seriadas



AGRADECIMIENTOS

Se agradece especialmente a los departamentos de Bioquímica y Microbiología y de Química en la Universidad del Valle de Guatemala por el acceso a los recursos utilizados para esta investigación, a la otra integrante involucrada de Micología Rocío Us y a los docentes y tesisistas que proporcionaron su apoyo y guía profesional en el estudio: Dr. Patrizia Lupo, Msc. Irma Orellana, Msc. Angelika Hasselmann, Msc. Christa Contreras, Lic. Andrés Say, Msc. Andrés Weinfeld Ávalos y Msc. Ana Luisa Mendizabal.

DISCUSIÓN

- El análisis espectroscópico confirmó la presencia de un grupo hidroxilo (Timol) y anillos aromáticos (Clotrimazol), confirmando el análisis de la molécula propuesta.
- El análisis macroscópico, el porcentaje de crecimiento, las medias de los diámetros medidos de las colonias y las desviaciones estándares entre las corridas mostraron un alto grado de precisión y efectividad en la inhibición del crecimiento de dos de los tres hongos fitopatógenos estudiados. *Fusarium spp.* y *Colletotrichum spp.* fueron los géneros que presentaron menor grado de crecimiento ante la nueva molécula al interferir en la síntesis de ergosterol en la membrana celular de los hongos afectando su grado de permeabilidad.
- No se inhibió el crecimiento de las corridas de *Nigrospora spp.* lo cual difirió del mecanismo de resistencia de los otros hongos fitopatógenos del estudio por su característica adaptabilidad a los entornos y resistencias intrínsecas desarrolladas.
- Los efectos inhibitorios ante la molécula fueron menores que los controles de Timol, sugiriendo que la ruta sintética pudo haber afectado en la funcionalidad y orientación espacial de los grupos funcionales que proporcionan la actividad antifúngica a la molécula propuesta.

CONCLUSIÓN

- Se logró sintetizar un compuesto azólico a partir de Clotrimazol y Timol con el objetivo de evaluar su actividad antifúngica en hongos fitopatógenos. Los resultados demostraron que la nueva molécula fue efectiva en inhibir el crecimiento de dos de los tres hongos fitopatógenos analizados, evidenciando su potencial como agente antifúngico.
- La combinación de estas moléculas a través de un proceso complejo pudo haber introducido múltiples nitraciones o variaciones en la orientación espacial de los grupos funcionales claves para inhibir la síntesis del ergosterol, lo que resultó en una menor inhibición de la molécula comparada con sus componentes por separado.
- Se demostró que la adición de una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico al Clotrimazol resultó en la nitración del anillo azólico, y el exceso de ácidos facilitó la reducción del grupo nitrato a grupo amino.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar análisis de cromatografías de gases masas en los pasos de síntesis para verificar que no se hayan provocado nitraciones en múltiples posiciones aromáticas en la molécula del Clotrimazol y proporcionar datos con mayor confiabilidad.
- Además, se recomienda realizar ensayos adicionales de la molécula a una concentración de 10 (v/v%) para analizar el comportamiento y el porcentaje de crecimiento de los hongos fitopatógenos a concentraciones más altas, observar su efecto en la etapa de germinación de los rábanos e incluir una mayor cantidad de hongos fitopatógenos en el estudio para analizar el espectro de acción del antifúngico sintetizado.



Galería



Reporte de estudio



Bibliografía

