



Universidad Autónoma De Querétaro
Facultad de Ingeniería
División de Investigación y Posgrado

Actividad antifúngica de extractos de flor de *Erythrina americana* Miller sobre patógenos de interés agrícola

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas

Presenta:

Biól. Hugo Asael Rodríguez Guadarrama

Dirigido por:

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez

SINODALES

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Presidente

Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez
Secretario


Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Vocal

Dra. Rosario Guzmán Cruz
Suplente

Dr. Juan Fernando García Trejo
Suplente


Firma


Firma


Firma


Firma


Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
2019
México

DEDICATORIAS

Esta tesis es dedicada a toda mi familia por su gran apoyo incondicional a lo largo de este tiempo de estudios y de mi vida.

A mi esposa Natalia, que siempre ha estado a mi lado a lo largo del tiempo del posgrado y que me apoyado en gran medida para mi desarrollo personal y emocional. Le agradezco mucho su paciencia para haber llegado hasta el término de este lapso profesional y que sigamos construyendo nuestro camino de vida (gracias, Amor).

A mi papá Víctor y mi mamá Carmen, quienes admiro y quiero mucho y siempre me han dado soporte desde sus inicios en mi carrera de ciencias. Estoy orgulloso de ustedes por enseñarme lo necesario para la vida.

A mi hermana y colega Laura, que comparto pensamientos y pasión por las ciencias biológicas. Además de ser mi cómplice de risas.

A mi suegra doña Inés por el apoyo en todo este tiempo y permitirme ser parte de su familia.

A todos mis tíos, primos y abuelos que forman parte de la familia. A mi abuela Licha, que en paz descanse.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada en la realización de este trabajo de investigación en el posgrado Maestría en Ciencias Ingeniería e Biosistemas, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro.

Al Laboratorio de Metabolitos y Nanocompuestos de la Unidad de Microbiología Básica y Aplicada (UMBA), campus Aeropuerto; al Laboratorio de Fisiología Vegetal, campus Amazcala, a cargo del Dr. Ramón Guevara González; y al Laboratorio de Biotecnología de Hongos, campus Cerro de las Campanas, a cargo del Dr. Sergio Romero Gómez por la utilización del equipo y estancia para llevar a cabo las actividades experimentales.

A mi directora de tesis, la Dra. Angélica Feregrino por ser una persona responsable y atenta a las necesidades de sus estudiantes.

A la Lic. en Microbiología Silvia Pineda por ser una amiga y apoyo para el desarrollo técnico en el laboratorio de Metabolitos.

A Mariana (Teté) por la asistencia de la etapa final de mi experimentación de la tesis.

A mis compañeros de Maestría: Miguel, Betsie, Ana, Byanka y Ernesto, que fuimos un grupo unido para discusiones académicas, apoyo mutuo de trabajo y convivencias sociales amenas.

ÍNDICE

RESUMEN	8
SUMMARY	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. ANTECEDENTES	13
II.1. Hongos patógenos de plantas	13
II.2. Fungicidas químicos sintéticos	14
II.3. Hongos patógenos en cultivos agrícolas en México	15
II.4. Actividades antimicrobianas de extractos de flores de plantas	17
II.5. Actividades antifúngicas de extractos de plantas endémicas de México	18
II.6. Género <i>Erythrina</i> y sus metabolitos antimicrobianos	22
II.7. El Colorín (<i>Erythrina americana</i> Miller)	23
III. HIPÓTESIS	26
IV. OBJETIVOS	27
V. METODOLOGÍA	28
V.1. Obtención de material biológico de campo	28
V.1.1. Datos de temperatura y humedad relativa ambiental	29
V.1.2. Datos análisis de fertilidad de suelo	29
V.1.3. Datos de longitud y peso de flor	30
V.2. Obtención de extracto metanólico y acuoso	30
V.3. Cuantificación de compuestos fenólicos:	31
V.3.1. Concentración de fenoles totales	31
V.3.2. Concentración de taninos condensados.....	31
V.3.3. Concentración de flavonoides totales	32
V.4. Determinación de tipos de ácidos fenólicos y otros metabolitos por cromatografía de masas-espectrometría de gases (CM-EG)	32
V.5. Determinación de actividad antioxidante:	32
V.5.1. Actividad antioxidante mediante <i>DPPH</i>	33
V.5.2. Actividad antioxidante mediante <i>ABTS</i>	33
V.6. Preparación de medios de cultivo para hongos	34
V.7. Evaluación de la actividad antifúngica en crecimiento micelial	35
V.8. Evaluación de la actividad antifúngica en esporulación de <i>Aspergillus</i> spp. .	36

V.9. Evaluación de análisis estadísticos.....	37
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
VI.1. Datos ambientales y medidas morfométricas de la flor de Colorín	37
VI.2. Concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de flor de Colorín.....	39
VI.3. Obtención de compuestos presentes en flor de Colorín a través de Espectrometría de Masas/Cromatografía de gases (EM/CG)	41
VI.4. Determinación del efecto de extractos metanólicos y acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos	46
V.5. Determinación del efecto de extractos metanólicos y acuosos de flor de Colorín sobre la esporulación de los hongos <i>Aspergillus niger</i> N402 y <i>A. flavus</i> (+)	61
VII. CONCLUSIONES	64
VIII. PERSPECTIVAS	65
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
X. APÉNDICE	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flor madura de Colorín (<i>Erythrina americana</i> Miller).....	25
Figura 2. Temperatura y humedad relativa media ambiental en el sitio de muestreo	38
Figura 3. Cuantificación de compuestos fenólicos de extractos acuosos (EA) y extractores (EM) de pétalo (P) y cáliz-pistilo (CPi) de flor de <i>Erythrina americana</i> Miller en muestras fresca	39
Figura 4. Actividad antioxidante de extractos acuosos (EA) y extractos metanólicos (EM) de pétalo (P) y cáliz-pistilo (Cpi) de flor de <i>Erythrina americana</i> Miller en muestras fresca	40
Figura 5. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> en a) 24 h y b) 48 h	47
Figura 6. Imágenes del crecimiento micelial de <i>F. oxysporum</i> en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín	47
Figura 7. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium. oxysporum</i>	48

Figura 8. Imágenes del crecimiento micelial de <i>F. oxysporum</i> en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín).....	48
Figura 9. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Sclerotium cepivorum</i> C1	50
Figura 10. Imágenes del crecimiento micelial de <i>S. cepivorum</i> C1 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín	50
Figura 11. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Sclerotium cepivorum</i> C1	51
Figura 12. Imágenes del crecimiento micelial de <i>S. cepivorum</i> C1 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín	51
Figura 13. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Sclerotium cepivorum</i> C2	52
Figura 14. Imágenes del crecimiento micelial de <i>S. cepivorum</i> C2 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín	53
Figura 15. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Sclerotium cepivorum</i> C2	53
Figura 16. Imágenes del crecimiento micelial de <i>S. cepivorum</i> C2 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín	54
Figura 17. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Aspergillus niger</i> N402	55
Figura 18. Imágenes del crecimiento micelial de <i>A. niger</i> N402 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín	56
Figura 19. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>A. niger</i> N402	56
Figura 20. Imágenes del crecimiento micelial de <i>A. niger</i> N402 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín	57
Figura 21. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>Aspergillus flavus</i> (+).....	58
Figura 22. Imágenes del crecimiento micelial de <i>A. flavus</i> (+) en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín	59
Figura 23. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de <i>A. flavus</i> (+)	59
Figura 24. Imágenes del crecimiento micelial de <i>A. flavus</i> (+) en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades antifúngicas de plantas endémicas mexicanas sobre el crecimiento micelial de hongos patógenos de interés agrícola	20
Tabla 2. Datos morfométricos de las flores de Colorín y análisis de fertilidad del suelo del sitio de colecta	38
Tabla 3. Resumen de compuestos orgánicos de pétalo de Colorín obtenidos de EM/CG	42
Tabla 4. Resumen de compuestos orgánicos de cáliz de flor de Colorín obtenidos de EM/CG.....	44
Tabla 5. Resumen de compuestos orgánicos de pistilo de flor de Colorín obtenidos de EM/CG. m/z, relación de masa-carga; min. de retención, minuto de retención; P. M., peso molecular.....	45
Tabla 6. Compuestos orgánicos de pétalo de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.....	78
Tabla 7. Compuestos orgánicos de cáliz de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.....	84
Tabla 8. Compuestos orgánicos de pistilo de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.....	91

RESUMEN

Las frutas, hortalizas y cereales son productos susceptibles al ataque de hongos patógenos que causan graves enfermedades. Tradicionalmente, los tratamientos químicos se han utilizado para prevenir la aparición de plagas en campo; sin embargo, tienen un impacto negativo en el medio ambiente y provocan el desarrollo de cepas resistentes. Hay metabolitos secundarios o especializados biosintetizados por plantas vasculares que actualmente proporcionan nuevas fuentes de control de plagas, son biodegradables y tienen alta diversidad de propiedades bioactivas. En México, la diversidad de plantas endémicas muestra un valor agregado porque tienen propiedades medicinales y una gran capacidad antimicrobiana. El Colorín (*Erythrina americana* Miller) es una planta mexicana valiosa en aspectos culturales, ecológicas y farmacológicas, donde las flores son atractivas por sus componentes bioquímicos. El objetivo de este trabajo es determinar la actividad inhibitoria de extractos metanólicos y acuosos de flores de Colorín sobre el crecimiento micelial de los hongos patógenos *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium cepivorum*-C1 y -C2, *Aspergillus flavus* y sobre la esporulación de *A. flavus* y *A. niger*. La metodología consistió en obtener extractos metanólicos y acuosos de flor madura de Colorín (pétalo y cáliz-pistilo), realizar análisis de compuestos tipo fenólico y actividad antioxidante por ABTS+ y DPPH. Posteriormente se llevaron a cabo las pruebas de actividad antifúngica *in vitro* con diferentes concentraciones de interpolación de compuesto fenólicos (mg Eq de A.G./mL) de cada estructura floral: 100, 500, 1000 y 2,500 ppm, y Benomilo como fungicida comercial. Los resultados mostraron una cantidad mayor de compuestos fenólicos en la estructura de pétalo, con la extracción acuosa de pétalo más alta para compuestos de flavonoides totales y taninos condensados. También, una actividad antioxidante más alta para pétalo en comparación a cáliz-pistilo, en particular de la extracción acuosa. En los análisis antifúngicos, se observó una actividad inhibitoria casi nula para todos los hongos de estudio en todas las concentraciones de extracto metanólico y acuoso. La única inhibición fue a 2,500 ppm de extracto metanólico de pétalo en *A. flavus*, tanto en crecimiento micelial (47% menos) como en esporulación (66% menos). Se concluye que los extractos de flor de Colorín no tienen actividad antifúngica de igual manera que un fungicida comercial o un fungicida natural; presentan el efecto contrario en las concentraciones más bajas de extractos de flor, es decir, promueven el crecimiento micelial y/o de esporulación en los hongos fitopatógenos de este estudio.

SUMMARY

Fruits, vegetables and cereals are susceptible products to the pathogenic fungi that cause diseases. Traditionally, chemical treatments are used to prevent the emergence of plagues on field; however, they have a negative impact on the environment and cause the development of resistant strains. There are secondary or specialized metabolites biosynthesized by higher plants that currently provide new sources of pest control, they are biodegradable and have a diverse activity due to the combination of bioactive compounds. In Mexico, the diversity of endemic plants shows an added value because they have medicinal properties and antifungal capacity. The Colorín (*Erythrina americana* Miller) is a valuable Mexican plant in cultural, ecological and pharmacological aspects, where the flowers are attractive for their biochemical components. The objective of this work is to determine the antifungal activity of the methanolic and aqueous extracts of Colorin flowers on the mycelial growth of the pathogenic fungi *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium cepivorum*-C1 and -C2, *Aspergillus flavus* and on sporulation of *A. flavus* and *A. niger* N402. The methodology consisted of obtaining methanolic and aqueous extracts of Colorin mature flowers (petal and calyx-pistil), making analysis of phenolic compounds and antioxidant activity by ABTS+ and DPPH. Subsequently, tests of antifungal activity were carried out *in vitro* with different interpolation of phenolic compound concentration (mg Eq of A.G. / mL) of each floral structure: 100, 500, 1000 and 2,500 ppm, and Benomyl as a commercial fungicide. The results show a higher quantity of phenolic compounds in the petal structure, specifically in total flavonoids and condensed tannins for petal aqueous extraction. Also, a higher antioxidant activity for petal, in particular aqueous extraction. In antifungal analyzes, there is a null or almost no inhibitory activity on all fungi in this study with all concentrations of the methanolic and aqueous extracts. The only inhibitory effect occurred at 2,500 ppm of petal methanolic extract in *A. flavus*, both in mycelial growth (47 % less) and sporulation (66% less). It is concluded that the extracts of the *E. americana* flowers have no antifungal activity as well as a commercial fungicide or a natural fungicide. In contrast, the flower extracts present the opposite effect in the lower quantities, in other words, they promote mycelial growth and sporulation of the studied phytopathogenic fungi.

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo, la producción de cultivos de frutas, hortalizas y cereales es susceptible al ataque de microorganismos causantes de enfermedades, en la pre- y poscosecha y durante su almacenamiento, lo cual ocasiona grandes pérdidas económicas (Agrios, 2005). Los organismos patógenos de plantas, también llamados fitopatógenos, más importantes en los cultivos agrícolas son normalmente las bacterias y los hongos, siendo con mayor frecuencia estos últimos con aproximadamente dos tercios de infecciones en plantas (FAO, 2016). Algunos de las especies de hongos fitopatógenos incluyen, por ejemplo, a *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium cepivorum*, y *Aspergillus flavus* que afectan a cultivos importantes de nuestro país (González et al., 2012; Ulacio-Osorio et al., 2006; Moreno y González, 2011). El hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* provoca marchitez vascular y el rendimiento de hasta un 60% del jiomate, el cual es considerado una hortaliza muy importante por su alta producción en muchos países en el mundo, incluyendo a México (González et al., 2012; Ríos-Osorio et al., 2014). Una de las toxinas más conocidas y de mayor efecto carcinogénico es la aflatoxina B1, la cual produce *Aspergillus flavus* una vez que se establece en la precosecha y poscosecha de agricultivos ricos en aceite como el maíz, maní y semillas de algodón (Martínez y Hernández, 2013; Meareg y Keller, 2014). Por último, la pudrición blanca que causa el hongo *Sclerotium cepivorum* es la principal enfermedad que reduce la calidad y el rendimiento de la producción de ajo (*Allium sativum*), uno de los cultivos más rentables en México (Delgadillo-Sánchez, 2004; Ulacio-Osorio et al., 2006).

Las plantas vasculares presentan una gran variedad de sustancias conocidas como metabolitos secundarios o especializados tales como taninos, terpenoides, saponinas, alcaloides, flavonoides y otros compuestos bioactivos que son reportados para tener actividades antifúngicas y antibacterianas y que se han extraídos para utilizarlos como biocidas naturales que no causan ningún daño al medio ambiente (Ribera y Zuñiga, 2012). Los extractos son las sustancias más concentradas que se pueden obtener, en este caso de partes de las plantas, con la conservación de sus propiedades por medio de solventes (metanol) o diluciones con agua. El género *Erythrina* (familia Fabaceae) presenta un gran potencial fitoquímico,

del cual se han extraído varios compuestos para uso medicinal o farmacológico y algunos como antimicrobiano (Araujo-Junior *et al.*, 2012); como la erisovina de semillas de *Erythrina americana* Miller que presentan actividad antifúngica en algunos hongos de interés agrícola (Ibarra-Estrada *et al.*, 2009). Se han identificado la presencia de alcaloides del tipo eritranano y del tipo lactónico en extractos de flores de *E. americana* (Sánchez-Herrera *et al.*, 2001); sin embargo, se desconocen otros metabolitos secundarios y su efecto antifúngico sobre hongos patógenos.

Este trabajo tiene la meta de conocer la composición química de metabolitos secundarios de los extractos de flor de *Erythrina americana* Miller y utilizarlo como un producto natural para determinar su actividad antifúngica sobre los hongos patógenos *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium cepivorum*, y *Aspergillus flavus* que puedan ser de interés en los cultivos agrícolas a nivel local y en nuestro país. Se busca conocer el efecto de diferentes concentraciones de extracto de flor de colorín (C₀) sobre el crecimiento micelial y/o esporulación (F) de los diferentes tipos de hongos (G) de acuerdo al siguiente modelo:

$$F_n = (\alpha + C_0) + \epsilon_n + (\alpha + C_0) * G_n - e \quad (1)$$

Donde n es igual al número de especies de hongos estudiados (1, 2, 3); α es el factor ambiental en donde crecen y se desarrollan los hongos de manera constante (medio de cultivo); e , es el error restado en cuanto condición del extracto (metanol) que puede interferir sobre el efecto inhibitorio de los hongos; y F es la variable de respuesta en cuanto crecimiento micelial y/o esporulación de los hongos.

Los hongos constituyen uno de los principales agentes infecciosos en plantas, causando alteraciones en etapas del desarrollo, en poscosecha y problemas de calidad relacionados a la apariencia física, valor nutritivo y vida de anaquel limitada (Agrios, 2004; FAO, 2016). Se estima que los hongos fitopatógenos causan pérdidas del 5 al 25 % en países desarrollados y de 20 a 50% en países en desarrollo (Rivera, 2008), lo cual es un dato considerable partiendo de la necesidad de aumentar más la eficiencia de producción en sistemas agronómicos.

Por otro lado, el uso desregulado de los plaguicidas sintéticos ha provocado resistencias cruzadas, y una continua coevolución de los patógenos (Feyereisen, 1999), sin mencionar el grave daño al ambiente por su largo tiempo de degradación (Palomares-Padres, 2011). Existen varias alternativas para el control de plagas, y una de ellas ha sido el control biológico. Sin embargo, el día de hoy se sabe que el control biológico puede afectar a diferentes huéspedes, no necesariamente patógenos, lo que puede comprometer el desplazamiento de las especies nativas y no-nativas y los procesos ecológicos de los organismos (Van Driesche *et al.*, 2003). Existen metabolitos secundarios que son biosintetizados por plantas, hongos y bacterias que proporcionan nuevas y fuentes alternas controladoras de plagas (insectos, hongos, bacterias y virus), además de que son biodegradables y presentan actividad selectiva al estar constituidos por combinaciones de compuestos bioactivos (Céspedes y Alarcón, 2011; Nava-Pérez *et al.*, 2012). Varios derivados de plantas de vida silvestre poseen actividades antimicrobianas e insecticidas y en la actualidad se está incrementando el uso de estos para encontrar microbiocidas más seguros que los convencionales sintéticos debido a la necesidad de prevenir la degradación ambiental (Saravanakumar *et al.*, 2009; Céspedes y Alarcón, 2011; Nava-Pérez *et al.*, 2012).

La planta *Erythrina americana* Miller es una valiosa especie endémica de México ya que, además de que es un árbol importante en sistemas agroforestales y restauración de suelos degradados (Fehling-Fraser y Ceccon, 2015), es ornamental en las ciudades y sus flores son frecuentemente comidas, usadas para hacer infusiones y sedantes y como fármaco (García-Mateos *et al.*, 2001). También, ha sido extensamente estudiada debido a sus altos contenidos de alcaloides en todas las partes de la planta (García-Mateos *et al.*, 1998; García-Mateos *et al.*, 2001) y varios autores reportan a los compuestos fenólicos como los responsables de los tratamientos médicos en procesos analgésicos, antiinflamatorios, prevención de osteoporosis, cáncer, diabetes mellitus, cardiopatía y neurodegeneración (Balasundram *et al.*, 2006; Sumbul *et al.*, 2011). Se han realizado estudios de actividad antifúngica de un alcaloide de extracto de semilla sobre algunos hongos patógenos de interés agrícola con efectos comparables a fungicidas químicos

sintéticos (Ibarra-Estrada *et al.*, 2009). Además, se ha evaluado la toxicidad de extractos crudos de esta especie en el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y el maíz (*Zea mays*) y no se ha encontrado algún efecto alelopático (positivo o negativo) en su germinación (García-Mateos *et al.*, 2001). Por otro lado, varias especies del género *Erythrina* en sus diferentes partes vegetales exhiben actividad antimicrobiana (Rukachaisirikul *et al.*, 2007; Araujo-Junior *et al.*, 2012; Muthukrishnan *et al.*, 2014), que no ha sido explorada completamente en la especie *E. americana*.

El vasto repertorio de compuestos secundarios de plantas vasculares puede servir como biopesticidas o como plantillas para la síntesis de nuevos pesticidas naturales basados en su química (Ribera y Zuñiga, 2012). Faltan estudios que ayuden a determinar blancos y mecanismos de acción de los productos naturales y es importante aumentar la investigación en el desarrollo u obtención de estos. Los bioensayos que determinan la susceptibilidad de aislados fúngicos a metabolitos secundarios pueden convertirse en una tecnología clave en este campo (Engelmeier y Hadacek, 2006). La búsqueda de metabolitos antifúngicos de plantas se centra en varios puntos: identificar y caracterizar estas sustancias envueltas en alta actividad inhibitoria de hongos fitopatógenos y usarlos directamente como fungicidas naturales, los cuales son amigables con el medio ambiente; se mejore la capacidad de eliminación de plagas; orientar el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas o de ingeniería metabólica para su producción; y aumentar el protección de los cultivos agrícolas y su rendimiento.

II. ANTECEDENTES

II.1. Hongos patógenos de plantas

A todos los hongos que causan enfermedades en plantas se les conoce como hongos fitopatógenos (del griego '*phyton*' = planta, y '*pathos*' = enfermedad) (Trigos *et al.*, 2008). Se estima que existen más de 8 mil especies de hongos que causan enfermedades en las plantas (Juárez-Becerra *et al.*, 2010). Los hongos fitopatógenos constituyen uno de los principales agentes infecciosos en plantas,

provocando alteraciones en etapas del desarrollo y en poscosecha y problemas de calidad relacionados a las características organolépticas y vida de anaquel de los productos (Agrios, 2004). La mayoría de ellas pueden ser atacadas por un tipo de hongo o varios, o bien, un mismo hongo puede infectar a una o varias especies de plantas (García, 2004). Los efectos producidos por los hongos en las plantas pueden ser en una zona específica del tejido, o sistémico si causan un daño completo a toda la planta. Las características del daño producido son, principalmente, una muerte del tejido (necrosis), atrofia de una parte de la planta o la planta completa, hipertrofia (crecimiento excesivo y amorfo), infección de las raíces o el sistema vascular que pueden producir un color amarillo y marchitez, manchas foliares o tizones que causan la disminución de la vitalidad de las plantas (Juárez-Becerra et al., 2010). Hongos fitopatógenos poseen mecanismos para penetrar la pared celular de las plantas: primero, el patógeno utiliza enzimas para degradar compuestos de la pared celular y alimentarse de los nutrientes de la planta; segundo, con la pared celular removida, protoplastos son destruidos por procesos osmóticos y la célula pierde las defensas inmunitarias; y tercera, el patógeno destruye el septo (estructura que une a las células vegetales), lo cual le confiere un libre movimiento dentro de los tejidos de la planta (Dyakov, 2007).

II.2. Fungicidas químicos sintéticos

Tradicionalmente, cuando los patógenos son detectados en el campo o cuando se requiere prevenir su aparición en la temporada de cultivos agrícolas, el control es llevado a cabo por tratamientos químicos (Santos et al., 2008). Entre los químicos más usados en la agricultura son, por ejemplo, los fungicidas benzimidazoles y tiofanatos que afectan la mitosis y división celular; los triazoles que se caracterizan por inhibir una enzima específica que juega un rol fundamental en la síntesis de esteroides, necesarios para la pared celular; y las estrobirulinas que inhiben la respiración mitocondrial de los hongos (Gaspar, 2013). Por ejemplo, el Captán 50 (carboxamidas) posee una fuerte inhibición en el crecimiento micelial del hongo *Fusarium oxysporum* (Ibarra-Estrada et al., 2009). La eficacia del fungicida tebuconazole sobre el hongo *Sclerotium cepivorum* está en función del número de

esclerocios en el suelo y la cantidad de aplicaciones (Delgadillo *et al.*, 2002). Los químicos butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT) y propil-parabeno (PP) controlan el crecimiento micelial y la producción de aflatoxinas de *A. parasiticus* y *A. flavus* (Thompson, 1992). Sin embargo, la emergencia de cepas resistentes a fungicidas químicos, la cancelación de registro o validación de los fungicidas, la contaminación y el impacto de los agroquímicos en los cultivos, la salud y el medio ambiente, pueden limitar su aplicación en el futuro (Lira, 2003; Tournu *et al.*, 2005; Fernández-Acero *et al.*, 2011).

II.3. Hongos patógenos en cultivos agrícolas en México

En México, el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos principales de exportación y se encuentra primordialmente en los estados del Noreste y Occidente, con rendimientos de 43.3 toneladas por hectárea (t/ha) y producción anual de 4 millones de toneladas (t) (FAOSTAT, 2018). Las especies de *Fusarium* causan marchitez en varias especies de plantas y siguen un patrón similar de infección: penetran la raíz y colonizan el sistema vascular (González *et al.*, 2012). Una de las especies más estudiadas es *Fusarium oxysporum*, ya que es una especie anamórfica que incluye cepas patogénicas y no patogénicas (Gordon y Martyn, 1997). Las formas patogénicas son agrupadas en subtipos de acuerdo al hospedero que infecta y perjudica a cultivos como sorgo, maíz, algodón, alfalfa, árboles forestales y frutales (Singh *et al.*, 2007). Por ejemplo, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que causa la pérdida de rendimientos de hasta un 60% del cultivo de tomate (González *et al.*, 2012; Ríos-Osorio *et al.*, 2014), es responsable de la traqueomicosis; y *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* provoca podredumbre del cuello y las raíces del tomate. Ambas cepas son morfológicamente indistinguibles, pero poseen habilidades parasitarias distintas (Carbonell *et al.*, 1994). Debido a la variación genética y amplia distribución de *F. oxysporum*, el manejo de este patógeno se torna difícil (González *et al.*, 2012), por lo que la utilización de biorreguladores, inductores de resistencia y productos de origen vegetal se han estudiado para encontrar estrategias efectivas de control (Rodríguez y Montilla, 2002).

Sclerotium cepivorum Berk, es el hongo causal de la pudrición blanca que exclusivamente afecta a las especies del género *Allium*, como cebolla, ajo y puerro, y puede causar la pérdida del 1 al 100% de estos cultivos (Perez-Moreno *et al.*, 1998). En México, la enfermedad es reportada en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Guanajuato, Puebla, Jalisco, Morelos, Michoacán, Querétaro, Tlaxcala y Zacatecas. En Guanajuato, por ejemplo, que es el principal productor de ajo y cebolla, se han encontrado densidades de 700 esclerocios (estructuras de resistencia del hongo)/ kg de suelo, lo cual causa la gran pérdida cada año en este sitio ya que el control de esclerocios de *S. cepivorum* puede permanecer latente por más de 15 años (Pérez-Moreno, 1998; Ulacio-Osorio *et al.*, 2006). Se han utilizado diversas estrategias para combatir a este fitopatógeno, como la combinación de solarización del suelo e incorporación de residuos de brócoli (Ulacio-Osorio *et al.*, 2006) o la combinación de solarización y tratamiento químico con tebuconazole (Delgadillo-Sánchez *et al.*, 2004), lo que aumenta un poco el rendimiento las plantaciones de ajo, pero sin un progreso significativo en la lucha de esta enfermedad.

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo nativo mexicano más importante de acuerdo con la superficie cultivada anualmente, su consumo *per capita* y su potencial en el sector industrial (Martinez y Hernández, 2013). En el 2018, 28.2 millones de t de maíz se produjeron en 7.5 millones de ha (FAOSTAT, 2018); sin embargo, la cantidad y la calidad de la producción se ven afectados debido a la incidencia de enfermedades y plagas, variaciones de temperatura, sequía, etc. (Moreno y González, 2011). *Aspergillus flavus* es un hongo saprofito ubicuo encontrado a nivel del suelo como esclerocio, en condiciones adversas, o como conidio para su rápida propagación asexual (Amaike y Keller, 2011) y afecta a los agricultivos ricos en aceite que incluyen maíz, maní y semillas de algodón en la pre- y pos-cosecha (Meareg y Keller, 2014). Este hongo produce toxinas, llamadas aflatoxinas, que tienen un gran impacto en la economía y la salud y su producción es favorecida por las condiciones ambientales en el campo o en el almacenamiento del cultivo (Devreese *et al.*, 2013). Una de las aflatoxinas más conocidas y peligrosas por su efecto carcinogénico es la aflatoxina B1, por lo que su control es vital de una manera dosis-dependiente

(Carvajal, 2013). En México, la normativa para regular la incidencia de aflatoxinas en cereales, la NOM-247-SSA1-2008, indica la cantidad máxima permisible de aflatoxinas en cereales, la cual es de 20ug/kg tanto para el consumo humano como consumo animal (Martínez y Hernández, 2013), lo cual lleva a la emergencia de desarrollar estrategias de tipo químico, cultural y/o biológico para disminuir la incidencia de hongos y sus aflatoxinas en el maíz.

II.4. Actividades antimicrobianas de extractos de flores de plantas

Tres familias de moléculas son generalmente consideradas: compuestos fenólicos, terpenos y esteroides, y alcaloides. Los metabolitos más conocidos y estudiados son los compuestos fenólicos, y que están envueltos en síntesis de lignina y son comunes en todas las plantas vasculares. Sin embargo, otros compuestos como los alcaloides están presentes en el reino Plantae y muchos son específicos del género y especie (Yang et al., 2018).

Las plantas vasculares presentan una gran variedad de fuentes de metabolitos secundarios tales como taninos, terpenoides, saponinas, alcaloides, flavonoides y otros compuestos bioactivos que son reportados para tener propiedades antifúngicas y antibacterianas (Ribera y Zuñiga, 2012). Otros metabolitos secundarios con actividad antifúngica derivan de plantas que pueden ser inhibidores preformados que están presentes en plantas saludables (llamadas fitoanticipinas), o ellos pueden sintetizarse *de novo*, llamadas fitoalexinas, en respuesta en un corto periodo de tiempo al ataque de patógenos u otras condiciones de estrés como heladas, sales, metales pesados o radiación UV (Dixon, 2001; Pelicice *et al.*, 2000). Los compuestos fenólicos como la emodina (antraquinona) aislada de la planta *Rhamnus triquetra* es altamente efectivo contra la germinación de esporas de algunos grupos de hongos (Izhaki, 2002). Por ejemplo, se ha propuesto un posible mecanismo de acción para el citral monoterpene en contra del hongo *A. flavus*, indicando que después de que el compuesto penetra la pared celular, daña irreversiblemente la membrana plasmática y el ADN con consecuente pérdida de la germinación de la espora (Luo *et al.*, 2002). Los metabolitos secundarios de plantas pueden afectar a los hongos fitopatógenos vía interferencia molecular en sus

organelos, tejidos y células, aunque en su mayoría sus blancos son biomembranas, proteínas y ácidos nucleicos (Engelmeier y Hadacek, 2006). No obstante, se han utilizado extractos de plantas, en lugar de químicos propionatos fitotóxicos, como la 'gobernadora' (*L. tridentata*) y compuestos aislados de *Eucalyptus globulus* que inhiben el crecimiento de *Aspergillus* y sus aflatoxinas (Rocha-Vilela *et al.*, 2009; Moreno y González, 2011). Se ha encontrado actividad antibacterial en extractos de flores del árbol de tulipán Indio (*Thespesia populnea*), en las cuales se han encontrado flavonoides, alcaloides, taninos y glucósidos antroquinonas (Saravanakumar *et al.*, 2009). Extractos con hidroalcohol y cloroformo de flor de *Cassia fistula* Linn. de los cuales presentan compuestos fenólicos y muestran actividad antifúngica contra *Aspergillus niger*, *A. clavatus* y *Candida albicans* (Bhalodia *et al.*, 2011).

II.5. Actividades antifúngicas de extractos de plantas endémicas de México

En México, la diversidad de plantas superiores se estima entre 18 mil y 30 mil especies (26,495 descritas), de las cuales entre 10 mil a 13 mil son endémicas y se concentran principalmente en las zonas áridas y semiáridas (CONABIO, 2017). No obstante, el conocimiento de la diversidad química de estas especies aun es incompleto y se calcula que podría haber más de un millón de metabolitos secundarios no identificados (Montes-Belmont, 2009). La búsqueda de nuevos compuestos naturales basada en el uso popular de determinadas plantas medicinales en nuestro país es un hecho bien documentado (Sánchez-Herrera, 2001), y la extracción de componentes de diferentes partes vegetativas y el comercio de material crudo como plaguicidas (Hernández-Castillo *et al.*, 2010).

Por ejemplo, el extracto hidrosoluble de resina de la Gobernadora (*Larrea tridentata*) puede inhibir la esporulación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* más que los químicos fungicidas Clorotalonil y prozycar 50 en una concentración de 1,000 ppm (partes por millón) (Lira-Saldívar *et al.*, 2003), y puede usarse como control de la pudrición de corona en tomate causada por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Cuadro 1; Peñuelas-Rubio *et al.*, 2017). También, el extracto de la Gobernadora puede ser comparable a los fungicidas comerciales al inhibir casi el 100% del

crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* (Lira-Saldívar *et al.*, 2003), del 40 al 100% de *A. flavus* y *A. niger* (Moreno y González, 2011) y del 100% sobre *Penicillium* sp. y *A. flavus* en extractos con etanol en una concentración de 100 mg/mL (Moreno-Limón *et al.*, 2011).

Los extractos de *Eysenhardtia polystachya* pueden inhibir hasta el 80% de crecimiento micelial de *Sclerotium cepivorum* y extractos de cultivos celulares suspendidos de la misma planta inhiben el 66% de *Rhizoctonia solani* comparado con el fungicida Cercobin que inhibe solo el 33% (Bernabé-Antonio *et al.*, 2017). Fracciones de los extractos metanólicos de la yerba *Targetes lucida* Cv., nativa de México y Guatemala, tienen un 100% de inhibición a 125 y 250 μ l/ml, contra *R. solani* y *Trichophyton mentagrophytes*, respectivamente (Céspedes *et al.*, 2006). Mientras que extractos de *Flourensia cernua* y *F. retinophylla* presentan una inhibición total del crecimiento de *R. solani* a 1000 μ l/L e inhibición total de *Alternaria* sp. y *F. oxysporum* a 1500 μ l/L (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007). El 0.2 μ l/mL de medio y 0.15 μ l/mL de aire (forma volátil) del aceite esencial del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) puede inhibir completamente la colonización de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* sobre las semillas de tomate sin afectar su capacidad de germinación (Cueto-Wong *et al.*, 2010).

Tabla 1. Actividades antifúngicas de plantas endémicas mexicanas sobre el crecimiento micelial de hongos patógenos de interés agrícola.

Planta	Concentración	Extracto	Hongos fitopatógenos	% de inhibición de micelio	% de inhibición de fungicida comercial	Referencia
<i>Larrea tridentata</i>	1000 µl/mL	Resina hidrosoluble de hoja	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Colletotrichum coccodes</i>	63.2 96 80.2	81.3 ^a 100 ^a	Lira-Saldivar et al., 2006
	1000 ppm	Hoja y tallo (EtOH y DCM)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>	100	100 ^b	Peñuelas-Rubio et al., 2017
	100 mg/mL	Hoja (EtOH)	<i>Aspergillus flavus</i>	100	100 ^c	Moreno-Lanón et al., 2011
	60 mg/mL	Hoja (MeOH)	<i>Penicillium</i> sp.	100	ND	Tequiles et al., 2002
	2000ppm	Hoja y tallo (EtOH)	<i>Fusarium poae</i> and <i>F. moniliforme</i>	100	ND	Castillo et al., 2010
	1000ppm	Hoja (lanolin)	<i>Rhizoctonia solani</i>	100	ND	Castillo-Reyes et al., 2015
	0.7 mg/L	Hoja (EtOH)	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100	ND	Osoyo et al., 2010
		Fracción polifenólica de hoja (Acetona)	<i>Pythium</i> sp., <i>Colletotrichum truncatum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Fusarium solani</i> and <i>F. sambucinum</i>	100	ND	
		Duramen y albura (DCM)	<i>Sclerotium cepivorum</i>	73-80	100 ^d	Bernabé-António et al., 2017
		Cultivo de células en suspensión (MeOH)		39		
<i>Eysenhardtia polystachya</i>	50 µg/µL	Cultivo de células en suspensión (MeOH)	<i>R. solani</i>	66	33 ^d	
<i>Tagetes lucida</i>	250 µl/mL	6,7-dimetoxicumarina y 6-metoxi-7-acetilcumarina (MeOH)	<i>R. solani</i>	100	100 ^e	Céspedes et al. 2006
<i>Flourensia cernua</i> y <i>F. retinophylla</i>	1000 µl/L	Hoja (EtOH)	<i>R. solani</i>	100	ND	de Rodríguez et al., 2007
	1500 µl/L		<i>R. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> and <i>Alternaria</i> sp.			
<i>F. cernua</i>	1000 ppm	Hoja (mantequilla de cocoa)	<i>R. solani</i>	100	ND	Castillo et al., 2010
	4000 mg/L	Leaf (fracción de hexano)	<i>Alternaria alternata</i>	91.9	ND	Guennero et al., 2007
	500 mg/L	Hoja (fracción de etanol)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> and <i>Penicillium digitatum</i>	93-94	ND	de Rodríguez et al. 2017
	2163 mg/L	Hoja (EtOH)	<i>F. oxysporum</i>	90	ND	
	4240 mg/L	Ramas (EtOH)		90	ND	
<i>L. graveolens</i>	0.15 µl/mL	Hoja y flor (destilación de vapor)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	100	ND	Cueto-Wong et al., 2010
	500 µg/L	Hoja (MeOH y Hexano)	<i>Rhizopus stolonifer</i>	100	ND	de Rodríguez et al. 2011
	500 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>C. gloeosporioides</i>	100	ND	
	2000 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>P. digitatum</i>	100	ND	Hernández-Castillo et al.,
	200 ppm	Hoja (Lanolina)	<i>R. solani</i>	100	ND	

Tabla 1. Actividades antifúngicas de plantas endémicas mexicanas sobre el crecimiento micelial de hongos patógenos de interés agrícola (*continuación*).

<i>Flourensia cernua</i> y <i>F. retinophylla</i> <i>F. cernua</i> , <i>F. retinophylla</i> and <i>F. microphylla</i>	1000 µl/L	Hoja (EtOH)	<i>R. solani</i>	100	ND	de Rodríguez et al., 2007
	1500 µl/L	Hoja (mantequilla de cocoa)	<i>R. solani</i>	100	ND	Castillo et al., 2010
<i>F. cernua</i>	1000 ppm	Leaf (fracción de hexano)	<i>Alternaria alternata</i>	91.9	ND	Guerrero et al., 2007
	4000 mg/L	Hoja (fracción de etanol)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> and <i>Penicillium digitatum</i>	93-94	ND	
	500 mg/L	Hoja (EtOH)	<i>F. oxysporum</i>	90	ND	de Rodríguez et al., 2017
	2163 mg/L 4240 mg/L	Ramas (EtOH)		90	ND	
<i>L. graveolens</i>	0.15 µl/mL	Hoja y flor (destilación de vapor)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	100	ND	Cueto-Wong et al., 2010
	500 µg/L	Hoja (MeOH y Hexano)	<i>Rhizopus stolonifer</i>	100	ND	
	500 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>C. gloeosporioides</i>	100	ND	de Rodríguez et al., 2011
	2000 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>P. digitatum</i>	100	ND	
	200 ppm	Hoja (Lanolina)	<i>R. solani</i>	100	ND	Hernández-Castillo et al., 2010
<i>Acaciella angustissima</i>	400 mg	Fenoles de vaina (MeOH)	<i>R. solani</i>	59.5	100 ^f	Vargas-Hernández et al., 2014
	GAE/ml		<i>F. oxysporum</i>	29.5		Ruiz-Bustos et al., 2009
<i>Jatropha cuneata</i>	500 µg/mL	Ramas y hojas (MeOH)	<i>Fusarium verticillioides</i>	42	ND	
	0.8 mg/mL	Erisovina de semillas (MeOH)	<i>Botrytis cinerea</i>	88		Ibarrá-Estrada et al., 2009
			<i>Monilia fructicola</i>	43	100 ^c	
<i>Erythrina americana</i>	4000 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>F. oxysporum</i>	57		
			<i>R. stolonifer</i>	100	ND	de Rodríguez et al., 2011
			<i>C. gloeosporioides</i>	100	ND	
<i>Agave lechuguilla</i>	500 µg/L	Hoja (Hexano)	<i>R. stolonifer</i>	100	ND	
	3000 µg/L	Hoja (MeOH)	<i>R. solani</i>	50	ND	Castillo et al., 2010
<i>Opuntia ficus-indica</i>	4000 µg/L	Tallo (H ₂ O)	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100	ND	Castillo-Reyes et al., 2015

Fungicidas comerciales: a: 2.000µl/mL de Clorotalonil y prozycar 50; b: 2 L/he de Tecto 60; c: 30 mg/mL de Captán; d: 50µg/µL de Cercobin; e: 0.9 µg/mL de Ketonazole; f: 100mg/L de Benlato; ND: No existen datos

II.6. Género *Erythrina* y sus metabolitos antimicrobianos

El nombre de *Erythrina* viene del griego 'erythrós', que quiere decir rojo y alude al color de las flores. Es un género con 130 especies que pertenece a la familia Fabaceae (Leguminosae), subfamilia Papilionoideae y se encuentran a través de los trópicos, subtropicos y algunas regiones templadas en el mundo (Neill, 1994). Varias especies han sido estudiadas por su morfología, distribución, cromosomas, farmacología y composición química: alcaloides, compuestos fenólicos, aminoácidos, etc. (Krukoff y Barneby, 1974; García-Mateos *et al.*, 2001; Araujo-Junior *et al.*, 2012). Las semillas son la principal fuente de compuestos alcaloides que incrementan con la maduración de la vaina (García-Mateos *et al.*, 2004) y en varios casos estos alcaloides se diferencian entre especies (García-Mateos *et al.*, 1998; San Miguel-Chávez *et al.*, 2006).

Algunos autores, por medio de análisis fitoquímicos, han encontrado en el género *Erythrina* la presencia de terpenos y flavonoides, especialmente isoflavones, pterocarpenos, flavonones e isoflavonones (Barakat *et al.*, 1997; Chacha *et al.*, 2005; Araujo-Junior *et al.*, 2012), los cuales han demostrado una gran variedad de actividades biológicas. Por ejemplo, los isoflavonoides (pterocarpanos) aislados de extractos de tallo de *Erythrina subumbrans*, exhiben actividad antimicrobiana y de fitoalexina (Rukachaisirikul *et al.*, 2007). Flavonoides de extractos con cloroformo de corteza de raíz de *Erythrina burttii* Ball con actividad antifúngica contra *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophyte*, *Microsporum gypsum* y *Saccharomyces cerevisiae* (Yenesew *et al.*, 2005). También, extractos etanólicos y acuosos de corteza de tallo de *E. mysorensis* Gamb. muestran efecto sobre *C. albicans* y *Aspergillus niger* (Nagaraja *et al.*, 2011). Extractos metanólicos de hojas, corteza de raíz y de tallo de *E. excelsa* presentan actividad inhibitoria de *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum gypsum* (Ogotu *et al.*, 2012). Los extractos de etanólicos de *E. variegata* muestran una actividad antifúngica alta contra *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, seguida de extractos con metanol, DMSO, hexano y acuoso con menor efecto inhibitorio (Muthukrishnan *et al.*, 2014). Alcaloides isoquinolinicos (epieritradina y 8-oxoerisodina) de flor y raíz de *Erythrina fusca* presentan actividad antifúngica contra *Mucor spp.*, *Fusarium oxysporum* f. sp.

dianthi y *Aspergillus niger* (Calle *et al.*, 1997). También, la isoflavanona prenilada (sigmoidina I) de raíces de *E. sigmoidea* exhiben actividad inhibitoria contra *Aspergillus fumigatus* (Nkengfack *et al.*, 1994).

II.7. El Colorín (*Erythrina americana* Miller)

Erythrina americana ha sido la especie del género más estudiada en México por sus altos contenidos de alcaloides en las semillas y su actividad farmacológica (Soto-Hernández y Jackson, 1994; García-Mateos, 1998) y se le conoce comúnmente como Patol, Colorín, Zompante o Moté (CONABIO, 2016).

La especie *Erythrina americana* Miller es interesante en varios puntos de vista, incluyendo el aspecto farmacológico-bioquímico, es un árbol de 4-5 m que se abre profusamente como una corona ramificada, tronco marrón, corteza suave, hojas alternas y trifoliadas puntiagudas. Pierde su follaje en temporada de invierno. Sus flores son cónicas vistosas situadas en espigas terminales y aparecen tempranamente en la primavera (Figura 1). Las legumbres y flores situadas en espigas terminales crecen hasta 12 cm de largo con semillas oblongas de 0.7-1 cm y de color rojo intenso. Esta planta es endémica del país y puede ser encontrado en vida silvestre a 1000-2100 msnm en bosques perenes, caducifolios y xerófilos con clima húmedo-cálido a clima seco y en sitios urbanos como ornamentales en el centro de México (Veracruz, Hidalgo, Edo. de México, Morelos, Guerrero, Puebla, Oaxaca) (García-Mateos *et al.*, 2001). También, se puede encontrar en el Estado de Querétaro (Saavedra-Marín y Martínez, 2007).

Aunque las flores del género *Erythrina* pueden tardar de 3 a 4 años en brotar desde la semilla (Huxley, 1992), *E. americana*, al igual que otras especies, es fácilmente propagada por macropropagación vegetativa (esquejes) tan efectiva como por germinación de semilla, además presenta crecimiento rápido y forma un buen dosel (Musálem, 1992; García-Mateos *et al.*, 2001). El método más común de esta propagación es por cortes leñosos y se señala que los mejores resultados obtenidos de estos son entre 0.6 a 10 cm de diámetro para cultivarlos (Llera y Meléndez, 1989). También, la especie tiene el potencial para reforestar suelos degradados o tierras deforestadas, por ser un buen fijador de nitrógeno (Sánchez-Vélez, 1992), y

se han llevado a cabo métodos de cultivo en invernadero con éxito para su inserción en ecosistemas de bosques tropicales caducifolios áridos (Fehling-Fraser y Ceccon, 2015).

Al igual que otras especies del género *Erythrina*, las semillas contienen gran cantidad de compuestos secundarios de tipo alcaloide y presentan una gran actividad antioxidante (hasta 94% con el radical DPPH con 0.5 mg/mL) (Ibarra-Estrada *et al.*, 2011) aunque se pueden encontrar en baja cantidad en flores, hojas y corteza. Por ejemplo, α -eritroidina, β -eritroidina, 8-oxo- α -eritroidina, erisodina, eritralina-N-óxido, eritratina, eritralina, erithbidina, cristamidina y β -D-glucoerisopina han sido encontradas en las flores (Sánchez-Herrera *et al.*, 2001; Reimann, 2007). Compuestos como erithbidina y erisolina se han encontrado en hojas, y únicamente la eritratidina se ha reportado en la corteza (García-Mateos *et al.*, 1998). Las aplicaciones en el área médica dependen del extracto de cada parte de la planta: la corteza es utilizado como contraceptivo y abortivo; las semillas como depresor del Sistema Nervioso Central (Garín-Aguilar *et al.*, 2000), como sedante y relajante muscular (Sánchez-Herrera *et al.*, 2001) y como plaguicida contra mosquitos (García-Mateos *et al.*, 2004). Las flores, hojas y semillas en conjunto son usadas en hipnosis y como antiinflamatorio en brazos, piernas y ojos por mordeduras de insectos, abscesos y úlceras, y toda la planta puede ser utilizada para tratar la malaria, limpiar el hígado, riñones y pulmones y los dolores de diente, espalda y oído (Hasting 1990; Gheno-Heredia *et a.*, 2011; Araújo-Júnior *et al.*, 2012). Las flores son usadas para hacer infusiones con propiedad farmacológica, como un alimento complementario y son altamente apreciadas por su sabor en platillos tradicionales de la región (García-Mateos *et al.*, 2001). Se ha descubierto que el cáliz de la flor presenta un mayor número de alcaloides del tipo eritranano en comparación con los pétalos (corola): en cáliz y pétalo existen tres alcaloides del tipo lactónico (α -eritroidina, β -eritroidina y 8-oxo- α -eritroidina); en cáliz tres del tipo diénico (eritranina, eritralina y cristamida) y un alcaloide no identificado; y en corola dos diénicos (eritranina y erisodina) (Sánchez-Herrera *et al.*, 2001). También, el follaje de esta planta presenta carbohidratos estructurales y un porcentaje de proteína cruda que puede ser consumida por el ganado, principalmente rumiantes,

y puede constituir hasta un 30% de su dieta sin que tenga alguna repercusión en su salud por los metabolitos secundarios vegetales (Oliva-Hernández y López-Herrera, 2016).



Figura 1. Flor de Colorín (*Erythrina americana* Miller). Foto por Rodríguez-Guadarrama.

Se ha investigado al compuesto erisovina de *E. americana* Miller con efecto antifúngico. El compuesto fue extraído con solventes hexano y metanol de semillas maduras y purificado y aislado para probar su efecto contra hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* spp., *Botrytis cinérea* y *Trichoderma harzianum*. Se encontró que la dosis de 8 mg/ml de erisovina inhibe el crecimiento micelial de *B. cinérea*, *F. oxysporum* y *M. fructicola*, en un 88, 57 y 43% respectivamente, mientras que la inhibición de *A. solani*, *Penicillium* sp. y *T. harzianum* fue apenas del 27% superiores al testigo dimetil-disulfóxido (DMSO). De otra forma, esta misma dosis de erisovina puede inhibir el crecimiento de todos los hongos, a excepción de *Penicillium* sp., de igual forma que los fungicidas comerciales Benomil, Captán⁵⁰ y Daconil (Ibarra-Estrada *et al.*, 2009). No obstante, existen otros compuestos en distintos tejidos (flores) y en distintas concentraciones que pueden conferir una mayor o igual respuesta de actividad antifúngica; como los fenoles y flavonoides que exhiben actividad antimicrobiana en otras especies del género (Araujo-Junior *et al.*, 2012) y que no han sido explorados en la especie *E. americana* (García-Mateos *et al.*, 2001).

III. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos y/o acuosos de pétalo y cáliz-pistilo de flor de Colorín (*Erythrina americana* Miller) presentan una cantidad importante de metabolitos especializados con efecto antioxidante y otras propiedades bioactivas, de las cuales poseen una actividad inhibitoria en el crecimiento micelial de los hongos patógenos *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium cepivorum* y *Aspergillus flavus*; o bien, inhibición de la esporulación de *Aspergillus flavus*, de igual manera que la inhibición de los procesos biológicos que presenta un fungicida comercial.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

IV. OBJETIVOS

IV.1. General

Determinar la actividad antifúngica de extractos de la flor de la planta Colorín *Erythrina americana* Miller sobre hongos patógenos de interés agrícola.

IV.2. Particulares

- Cuantificar compuestos fenólicos (fenoles totales, flavonoides totales y taninos condensados) presentes en extracto metanólico y acuoso en muestras fresca de flor (pétalo y cáliz-pistilo) de Colorín.
- Determinar la actividad antioxidante por medio de DPPH y ABTS⁺ presentes en extracto metanólico y acuoso en muestras fresca de flor (pétalo y cáliz-pistilo) de Colorín.
- Determinar los tipos de compuestos fenólicos y/o orgánicos presentes en el extracto de flor de colorín por técnicas cromatográficas (Espectrometría de Masas/Cromatografía de Gases).
- Evaluar la actividad antifúngica del extracto acuoso y metanólico de diferentes partes de la flor (cáliz-pistilo y pétalo) de Colorín y un fungicida comercial (Promyl 50) sobre el crecimiento micelial *in vitro* de los hongos *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium oxysporum*, *Apergillus flavus* y *Aspergillus niger*.
- Evaluar la actividad del extracto acuoso y metanólico de diferentes partes de la flor (cáliz-pistilo y pétalo) de Colorín sobre la inhibición de esporulación de los hongos *Aspergillus flavus* y *A. niger*.

V. Metodología

Los lugares donde se llevaron a cabo los experimentos fueron el Laboratorio de Biotecnología de Hongos, Facultad de Química, UAQ, para la parte de evaluación antifúngica, el Laboratorio de Metabolitos y Nanocompositos, Facultad de Ingeniería, Campus Aeropuerto, UAQ para la cuantificación de compuestos fenólicos y espectrometría de masas/cromatografía de gases; y Laboratorio de Fisiología Vegetal, Campus Amazcala, UAQ, para identificación y aislamiento de los organismos modelos para este estudio.

icación de los hongos y observación en microscopio compuesto.

En este apartado, se describen los procedimientos metodológicos para llevar a cabo el desarrollo de esta investigación:

V.1. Obtención de material biológico de campo

La colecta de flores de la planta Colorín (*Erythrina americana* Miller) se realizó de dos ejemplares en la localidad de Ejido Bolaños, municipio de Querétaro (Q) dentro las instalaciones de la Universidad Autónoma de Querétaro, campus Aeropuerto, (coordenadas 20°37'31" N, 100°22'15.6" O, 1981 m.s.n.m.), Estado de Querétaro, México durante el mes de marzo-abril del año 2018 y 2019. Las flores presentaron un color rojo brillante a rojo poco brillante, con aproximadamente 5 a 7 cm de longitud que indica la madurez de la flor (García-Mateos et al., 2001). Todas las muestras y los ejemplares fueron identificados mediante la descripción taxonómica hecha por San Miguel-Chávez et al., 2006. Las flores fueron limpiadas con agua destilada y se separaron estructuras florales: pétalos y cáliz-pistilo. Cada parte floral se congeló en nitrógeno líquido y se almacenó a -70°C hasta su uso.

V.1.1. Datos de temperatura y humedad relativa ambiental

Los datos ambientales de temperatura y humedad relativa fueron obtenidos de la base de datos de la estación climatológica del Aeropuerto Intercontinental de Querétaro (AIQ, 2018; AIQ, 2019), ubicada a 12 km de distancia del lugar de

muestreo. Datos fueron analizados 8 semanas antes de la colecta de material biológico, es decir, en los meses de enero y marzo.

V.1.2. Análisis de fertilidad de suelo donde se encuentran los ejemplares muestreados.

El suelo fue obtenido a 30 cm de profundidad (dentro de la rizosfera) y a 30 cm de distancia de los árboles. Se colectó aproximadamente 1 kg de suelo. Posteriormente, el suelo de cada sitio se dejó secar por 7 días, fue tamizado en malla de 2 mm y se hicieron los análisis correspondientes a fertilidad del suelo:

La determinación de materia orgánica del suelo se evalúa a través del contenido de carbono orgánico con el método de (Walkley y Black, 1934) y de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-07. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. Después de un cierto tiempo de espera la mezcla se diluye, se adiciona ácido fosfórico para evitar interferencias de Fe^{3+} y el dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso. Con este procedimiento se detecta entre un 70 y 84% del carbón orgánico total por lo que es necesario introducir un factor de corrección, el cual puede variar entre suelo y suelo. En los suelos de México se recomienda utilizar el factor 1.298 (1/0.77).

El fósforo extraíble en suelo neutro a alcalino se hizo de acuerdo a la metodología de (Olsen and Sommers, 1982) y NOM-021-RECNAT-2000 método AS-10. Se pesó 2.5 g de suelo y se colocó en tubo de polietileno. El fósforo fue extraído con una solución de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) a 0.5 M ajustada a un pH de 8.5 (solución extractora). Se tomó una alícuota de 5 mL del filtrado y se colocó en un matraz aforado de 50ml. Se agregó 5 ml de solución de ácido ascórbico + molibdato de amonio (solución reductora). Se leyó después de 30 min a una longitud de onda de 882 nm. La curva de calibración se hizo con fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) a 200 mg/L.

El método para la determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y K^+) de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-

2000. Consistió en la saturación de la superficie de intercambio con un catión índice, el ion amonio, lavado de exceso de saturante con alcohol; desplazamiento del catión índice con potasio y determinación del amonio mediante destilación.

Método para determinar los cationes solubles (Ca, Mg, Na y K) y conductividad eléctrica de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-18 consiste en el extracto de saturación por medición en un aparato de absorción atómica (Ca y Mg) y en un espectrofotómetro de flama (Na y K). El calcio y el magnesio solubles son medidos por espectrofotometría de absorción atómica y el potasio y el sodio por espectrofotometría de emisión atómica en los extractos diluidos. Las interferencias en las mediciones son eliminadas con lantano (La) y cesio (Cs), respectivamente.

V.1.3. Longitud y peso de flor de Colorín

Se midieron flores maduras al azar de la base del cáliz a la punta del pétalo y se pesaron individualmente. Se utilizaron 30 flores al azar por sitio (n=30).

V.2. Obtención de extracto metanólico y acuoso

Las partes florales recolectadas previamente se colocaron en maceración en metanol al 99% (Fermont) (extracto metanólico de pétalo, EMP y extracto metanólico de cáliz-pistilo, EMCPi) y en mezclas de agua destilada (extracto acuoso de pétalo liofilizado, EAP y extracto acuoso de cáliz-pistilo liofilizado, EACPi) en un Orbit1000 a 60 rpm. Cada uno de los extractos se dejó reposar durante 24 h en oscuridad; posteriormente se centrifugó (Thermo Scientific, Biofuge Primo R, USA) a 5,000 rpm a 4 °C durante 10 min y se recuperó el sobrenadante en un tubo nuevo. Para los extractos acuosos, las muestras se liofilizaron (Liofilizadora LABCONCO 120355361, U.S.A.) durante 72 h (Fig. 2) y almacenaron previamente en oscuridad hasta su uso. El extracto metanólico se sometió a rotaevaporación (Rotaevaporador Heildoph G1 2) a 20 rpm, 30° C (Fig. 3), para concentración de las muestras y las suspensiones se mantuvieron en refrigeración y en oscuridad hasta su uso.

Posteriormente se siguió la metodología de Cardador-Martínez *et al.*, (2002). Se colocaron 200 mg de muestra más 10 mL de metanol (MetOH), puestos en agitación y posterior centrifugación, para determinar compuestos fenólicos.

V.3. Cuantificación de compuestos fenólicos

V.3.1. Fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Este método consistió en la oxidación de los componentes fenólicos por el reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma Lote BCBJ1586V), el cual está constituido por una combinación de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico (óxidos azules de tungsteno y de molibdeno) que se reduce en una reacción REDOX por causa de los fenoles. El color azul producido absorbe a una longitud de onda de 760 nm. Para la cuantificación de fenoles totales, se tomó una alícuota (40 ml) del sobrenadante obtenido de la extracción y se llevó a un volumen total de 500 mL de agua destilada. Posteriormente, se mezcló con 250 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N) y se adicionó 1.25 mL de Carbonato de Calcio (Na_2CO_3 , Karal Lote 23745) al 20 % y se dejó reposar en ausencia de luz por 2 h a temperatura del ambiente. Transcurrido este tiempo, se midió la absorbancia (abs) en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, MULTISKAN Ascent 1.0) a 760 nm. La cuantificación se realizó interpolando los resultados en una curva estándar de ácido gálico (A.G., Sigma SLBW1278) de 0 a 20 μ g. Los resultados se expresaron como miligramos Equivalentes de A.G. por gramos de muestra de flor de Colorín (mg Eq. A.G. / g de flor de Colorín).

V.3.2. Taninos condensados

La cuantificación de taninos condensados se realizó siguiendo el procedimiento realizado por Feregrino-Pérez *et al.* (2008) modificando para su uso microplacas de 96 pozos. Al sobrenadante obtenido de la extracción (50 μ L) se le agregó 200 μ L de solución de vainillina (Fluka lote 0001415069) al 0.5 % de reciente preparación (vainillina 1 % en MetOH y HCl 8% en MetOH en una relación 1:1). Posteriormente, se preparó un blanco adicionando 50 μ L de MetOH y 200 μ L de HCl (J.T. Baker lote 9535-02) al 4 %. Para cuantificar los taninos condensados se midió la abs. a 492 nm en el espectrofotómetro MULTISKAN 1.0 utilizando una curva estándar de (+)

Catequina (Sigma Lote BCBV0725) y los resultados obtenidos se expresarán como mg Eq. de (+) C / g flor de Colorín.

V.3.3. Flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides totales se realizó lo descrito por Oomah *et al.* (2005). La determinación se realizó con 50 µl del extracto metanólico y acuoso de la muestra agregando 180 µL de agua destilada o metanol y 20 µL de solución 2-aminoetil-difenilborato (Sigma Aldrich Lote BCBK7607V) 1%. Se midió la abs en equipo espectrofotométrico visible MULTISKAN 1.0 con filtros de 404 nm y se interpolaron los resultados con la curva estándar a diferentes concentraciones (0-50 mg/mL) de Rutina (Sigma Lote 128K1177) expresándolos como mg Eq de R / g flor de Colorín.

V.4. Determinación de tipos de ácidos fenólicos por espectrometría de masas-cromatografía de gases (EM-CG).

Se pesó 10 mg de muestra liofilizada (pétalo, cáliz y pistilo) en un tubo de 2 mL y se añadió 1 mL de metanol grado HPLC (Karal 2100). Se sonicó (Elmasonic E 30 H, Singen) durante 8 h hasta disolverse perfectamente. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 10 min a 4°C y el sobrenadante se transfirió a un tubo ámbar de 900 µL. Posteriormente, las muestras se evaporizaron con nitrógeno gaseoso y agregó 50 µL agente derivatizante (N,0-bis[trimetilsilil]trifluoro acetamida, BSTFA, Sigma-Aldrich Lote BCBW2670). Se agitó por 2 min a temperatura ambiente. Se utilizó un EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 µm) en modo *spletess* temperatura del inyector 250°C y el tiempo de *spletess* de 2.5 min. Temperatura inicial de la corrida fue de 100°C/1 min, posteriormente aumento 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); luego incremento a 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador fue helio 1 mL/min.

V.5. Medición de capacidad antioxidante

V.5.1. Actividad antioxidante con DPPH

Se utilizó el método de Fukumoto y Mazza (2000), modificado de Brand -Williams et al., 1995, adaptado para su uso en microplaca de 96 pozos. Se realizó la preparación del reactivo Difenil-Picril-Pidrazilo (DPPH) en matraz aforado de 25 mL con MetOH y se adicionó al sobrenadante de la extracción de la muestra. Se midió la abs en el espectrofotómetro MULTISKAN 1.0 a 520 nm cada 10 min durante 90 min. La microplaca se mantuvo cubierta con papel aluminio a temperatura ambiente en cada pre-lectura. Se utilizó una curva estándar de ácido carboxílico \pm -6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2- (TROLOX, Aldrich Lote BCBG5969V) en concentraciones de 0.05-0.8 mM.

Cálculo de la actividad antioxidante (aaDPPH):

$$aaDPPH = 100 * (1 - A_{muestra} / A_{control}) \quad (2)$$

El resultado indicó decoloración del DPPH, donde aaDPPH = % de actividad antioxidante con el reactivo DPPH; $A_{muestra}$ = abs. de la muestra de flor de Colorín a 520 nm; y $A_{control}$ = abs. del control (ausencia de antioxidante).

También, se calculó la capacidad antioxidante mediante una curva estándar, TROLOX (TEAC):

$$TEAC_{muestra} = A_{muestra} / (m * [muestra]) \quad (3)$$

Donde $A_{muestra}$ = abs de la muestra a 520 nm; m = pendiente de la curva de calibración (); y [muestra] = concentración de cada muestra.

V.5.2. Actividad antioxidante con ABTS⁺

El método consistió del uso de 2,2-azinobis, 3-etil-benzotiazolin,6-ácido sulfónico (ABTS, Sigma Lote SLBG1958V) (Nenadis et al. 2004), modificado en microplaca de 96 pozos. Se adicionaron 19.20 mg de reactivo ABTS y se aforó a 5 mL con H₂O

destilada; después, se agregaron 88 µL de Persulfato de Potasio (K₂S₂O₈, Fermont Lote 58842) a una concentración de 140 mM para la formación del radical ABTS⁺ ocultándose de la luz por 12 h. Se monitoreó la abs con el MULTISKAN 1.0 a una longitud de onda de 734 nm, de 0.7 y 1.0 unidades. Se prepararon las muestras en microplaca de 96 pozos con las concentraciones del extracto y ABTS⁺, como control se utilizó metanol y ABTS⁺ y como blanco la muestra y metanol. Las absorbancias se midieron a 734nm por un lapso de 0 a 2 minutos. Se utilizó una curva estándar utilizando TROLOX en concentraciones de 50 a 800 µM. Los resultados se expresaron en mM de TROLOX/ g flor de Colorín.

El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$aaABTS = \frac{abs.inicial - abs.final}{abs.inicial} * 100 \quad (4)$$

Donde aaABTS = el % de la actividad antioxidante con el reactivo ABTS⁺.

Por otra parte, los resultados obtenidos de DPPH y ABTS⁺ fueron expresados como la concentración media inhibitoria (IC₅₀), calculadas de la curva de inhibición de dosis-respuesta por un algoritmo de regresión no lineal (polinómica de segundo grado) con la ayuda del programa estadístico GraphPaD Prisma versión 7 para Windows, San Diego California, USA, 2007.

V.6. Preparación de medios de cultivo para hongos

El hongo de *Aspergillus flavus* (cepa positiva a aflatoxina, +) y el hongo *Aspergillus niger* (N402), como hongo control no patógeno, fueron obtenidos del Laboratorio de Biotecnología de hongos de la Facultad de Química, UAQ bajo el resguardo del Dr. Sergio de J. Romero Gómez; y los hongos *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium cepivorum* (Cepa 1, C1, y cepa 2, C2) fueron obtenidos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato.

Se prepararon medios de papa dextrosa agar (PDA, MCD LAB Lote 704218D002) pH 5.6 para cultivar los hongos de estudio. Las esporas de los hongos *Aspergillus flavus* (+) y *Aspergillus niger* N402 se cultivaron en un matraz Erlenmeyer con 25 mL de medio PDA previamente esterilizado. Se dejaron incubar a 29 °C durante 72 h. Una vez teniendo un cultivo vigoroso de esporas se añadió 25 mL de agua destilada con Tween 20 (Meyer TG011500) al 0.1%. Las esporas fueron removidas con agitador magnético previamente esterilizado y el sobrenadante se recuperó en un tubo nuevo. La concentración de esporas de cada cultivo se determinó utilizando una cámara de *Neubauer* doble (hemocitómetro Merienfeld, Alemania) de acuerdo al método de conteo (Absher, 1973) y se realizaron las diluciones pertinentes con agua destilada estéril hasta obtener una concentración de 5×10^4 esporas/mL de los hongos *Aspergillus flavus* (+) y *Aspergillus niger* N402 para cada ensayo experimental. Los hongos de *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium cepivorum*-C1 y -C2 se cultivaron en medio PDA en cajas Petri 90x15 mm durante 5 días a 28°C. De estos últimos se obtuvieron discos miceliales de aproximadamente 0.45 cm de diámetro para las pruebas inhibitorias de crecimiento micelial.

V.7. Evaluación de la actividad antifúngica sobre crecimiento micelial de los hongos

El extracto de flor de Colorín del sitio de Querétaro (Q) fue escogido para las pruebas antifúngicas debido a la practicidad del material biológico disponible. La evaluación de los extractos de flor como agente antifúngico (fungicida o fungistático) se llevará a cabo mediante el método de dilución en medio Agar Dextrosa de Papa, PDA (Guerrero-Rodríguez et al., 2007) en cajas de tejido celular (1.6 cm de diámetro, 24 pozos). Las concentraciones de extractos metanólicos de pétalo de flor de Colorín fueron de 0.1 (100 ppm), 0.5 (500 ppm), 1 (1000 ppm) y 2.5 (2500 ppm) mg Eq. de Ácido Gálico/mL de solución PDA + extracto para pétalo (EMP) y 0.1 (100 ppm), 0.5 (500 ppm) y 1 (1000 ppm) mg Eq. De A.G./mL para Cáliz-Pistilo (EMCPi). Las concentraciones para los extractos acuosos fueron de 0.1 (100 ppm), 0.5 (500 ppm) y 1 (1000 ppm) mg Eq. de A.G./mL de solución para pétalo (EAP) y 0.1 (100 ppm) y 0.5 (500 ppm) mg Eq. A.G./mL de solución para cáliz-pistilo (EACPi). El fungicida químico comercial utilizado fue Promyl 50 (Benomilo: metil-1-

(butilcarbamoil) benzimidazol-2-il-carbamato) preparado al 0.1 mg/mL (100ppm) de solución PDA + ingrediente activo. El metanol absoluto (99%) + PDA y medio PDA + agua fueron utilizados como controles negativos. La adición de los extractos y soluciones de control negativos se añadieron en una mezcla homogénea previo a la solidificación del agar concentrado al 150%. Se prepararon suspensiones acuosas con 5×10^4 esporas por mL de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*. Después se tomó 2 μ L de cada suspensión para inocular en cada uno de los pozos de la caja de tejidos. Para el caso de *Sclerotium cepivorum* y *Fusarium oxysporum* se tomaron propágulos de micelio (aproximadamente de 4.5 mm de diámetro) y se sembraron en cada uno de los pozos de la caja de tejidos. Todos los tratamientos fueron incubados entre 25 y 28°C, humedad relativa de 60-70%. Se monitoreo a las 24 y 48 h para su cuantificación en relación al porcentaje de inhibición micelial de los hongos con respecto a cada tratamiento de los extractos de flores de Colorín. Fue determinado como efecto fungicida al no presentar crecimiento durante las próximas 48 h; o bien, como efecto fungistático al no presentar crecimiento a las 24 h pero sí a las 48 h.

El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente ecuación: las áreas de crecimiento micelial por tratamiento (área de ensayo) respecto al área de crecimiento micelial en PDA + agua (área control):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Área control} - \text{Área ensayo}}{\text{Área control}} * 100 \quad (5)$$

V.8. Evaluación de la actividad antifúngica de esporulación de los hongos *Aspergillus spp.*

Posteriormente a los ensayos de inhibición de crecimiento micelial, los hongos de *A. flavus* (+) y *A. niger* N402 con cada uno de los tratamientos fueron incubados en 72 h a 28°C. Después, discos de micelio de 1.5 cm con las esporas fueron transferidas a tubos de 50 mL con 10 mL de Tween 20 al 0.1% estéril, según la

metodología de (Babu & Singleton, 2009). Las esporas fueron removidas en agitación con el orbit1000 a 200 rpm por 4-5 h. Después, con la ayuda de un vórtex se agito rápida y vigorosamente antes de tomar el sobrenadante y pasarlo a un tubo nuevo. La solución con esporas fue filtrada con papel Whatman núm. 3 estéril para remover el agar y el micelio adyacente. Finalmente, se realizó un conteo de esporas con la cámara de *Neubauer* para cada uno de los tratamientos y se comparó con respecto al control negativo PDA+Agua.

V.9. Análisis estadístico

Todos los tratamientos de actividad antifúngica se realizaron por cuadruplicado (n=4). Los ensayos de determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante se realizaron por triplicado (N=3) con muestras escogidas al azar y tres repeticiones (r=3). Los datos ambientales (temperatura y humedad relativa) fueron promediados por semana en los meses de enero y febrero, es decir, datos de 7 días por semana. Se utilizó el programa estadístico *GraphPad Prisma* (versión 7.0, 2007, USA) para la realización de las gráficas y análisis estadístico. Los resultados obtenidos se expresaron como Media \pm Error Estándar (E.E.). Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de una vía con post-prueba de Dunnett para las actividades antifúngicas de crecimiento micelial y post-prueba de Tuckey para la actividad antifúngica de esporulación y determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cada estructura floral (pétalo y cáliz-pistilo). Diferencias significativas fueron igual o menor a 0.05 ($\alpha=0.05$).

VI. Resultados y discusión

VI.1. Datos ambientales y medidas morfométricas de la flor de Colorín

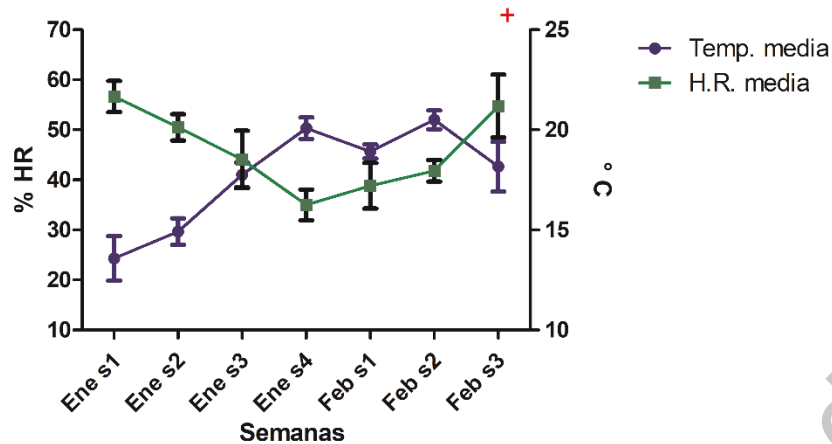


Figura 2. Temperatura y humedad relativa media ambiental en el sitio de muestreo: Ejido Bolaños, Querétaro, Qro. de los tres diferentes sitios. Líneas y puntos representan promedios \pm error estándar de datos diarios por cada semana. Temperatura media ($^{\circ}\text{C}$) es línea azul y Humedad Relativa (% HR) es línea verde. Las semanas corresponden a la semana 1-4 del mes de enero (Ene s1-s4) y semana de 1-3 del mes de febrero (Feb s1-s3). Cruz roja (+) indica el tiempo de colecta de muestras de flores Fuente: Datos Climatológicos de la Estación Aeropuerto Intercontinental de Querétaro, El Marqués, Querétaro (AIQ, 2019).

Tabla 2. Datos morfométricos de las flores de Colorín y análisis de fertilidad del suelo del sitio de colecta. Árboles n=2, flores n = 30, suelo analizado n=2.

Árbol	Medición	
Altura (m)	4.9 \pm 1.31	
Área dosel (m ²)	11.85 \pm 7.26	
Flores		
Largo (cáliz-petalo) cm	5.6 \pm 0.04	
Peso (cáliz-petalo) mg	389 \pm 16.4	
Número de flores maduras por inflorescencia	34 \pm 9.29	
Suelo	Interpretación	
Materia orgánica %	3.46 \pm 0.84	Media
Conductividad eléctrica (dS/m)	0.334 \pm 0.002	Imperceptible salinidad
Capacidad de intercambio catiónico [Cmol(+)/kg]	29.85 \pm 8.63	Alto
Nitrógeno mineralizable (kg N/Ha)	73 \pm 22.34	Aporte por ciclo (**)
Fósforo aprovechable (mg/kg)	4.18 \pm 0.18	Bajo
Calcio (mg/Kg)	8291.47 \pm 1201.65	Alto
Magnesio (mg/Kg)	1535.66 \pm 1198	Alto
Potasio (mg/Kg)	409.815 \pm 237.59	Medio
Sodio (mg/Kg)	443.485 \pm 33.43	Bajo

(**) Estimación válida para cultivos de verano según la clasificación NOM-021-SEMARNAT-2000

La colecta de flores de Colorín (*Erythrina americana* Miller) se llevó a cabo en la última semana del mes de febrero y la primera semana del mes de marzo, tiempo en la que las flores empezaron a madurar y a caer de la inflorescencia. También, coincide con el inicio del aumento de temperatura por la primavera y estímulo de floración de esta especie tipo caducifolia, según lo reportado anteriormente (Krukoff & Bernabe, 1973). La longitud de las flores de 5.6 cm es ligeramente menor (Tabla 2) a lo señalado en (Sánchez-Herrera et al., 2001) que es casi de 7 cm de longitud. Probablemente, esto se deba a las condiciones intrínsecas y/o extrínsecas del ejemplar y del lugar donde habita. No obstante, en el análisis de fertilidad de suelo hay una cantidad baja de fósforo aprovechable lo que puede indicar una disminución del crecimiento del sistema del vástago, que incluye ramas, hojas y flores, y un aumento del crecimiento del sistema radicular (Hansen and Lynch, 1998; Wissuwa, 2003).

VI.2. Concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de flor de Colorín.

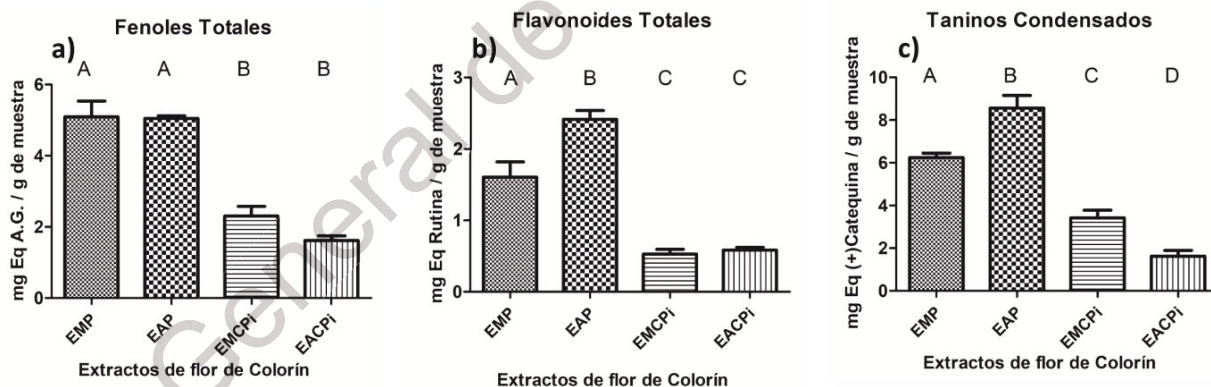


Figura 3. Cuantificación de compuestos fenólicos de extractos acuosos (EA) y extractos metanólicos (EM) de pétalo (P) y cáliz-pistilo (CPi) de flor de *Erythrina americana* Miller en muestras fresca. N=3, r=3, ANOVA una vía, prueba de Tuckey, $p < 0.05$. Letras diferentes indican diferencia significativa. a) Fenoles Totales, mg Equivalentes de Ácido Gálico / g de muestra fresca, $F = 44.26$; b) Flavonoides Totales, mg Equivalentes de Rutina / g de muestra fresca, $F = 49.23$; c) Taninos Condensados, mg Equivalentes de (+) Catequina / g de muestra fresca, $F = 62.63$.

La concentración de compuestos tipo fenólico es mayor en la estructura de pétalo que la estructura de cáliz-pistilo de la flor de Colorín, tanto en extracto metanólico y

acuoso (Fig. 3). Esto demuestra que existe una cantidad de compuestos fenólicos diferente en cada estructura floral, lo cual se correlaciona a los tipos diferentes de alcaloides encontrados en el trabajo de (Sánchez-Herrera et al., 2001). En los compuestos de fenoles totales, la concentración de extractos acuosos y metanólicos se mantiene igual (Fig. 3, a). Sin embargo, en la concentración de flavonoides totales y taninos condensados, la extracción acuosa de pétalo es mayor a la extracción metanólica de pétalo (Fig. 3, b y c). Esto es contrario a lo esperado, ya que el solvente metanol extrae compuestos fenólicos insolubles en agua (predominantemente los que están en paredes celulares) y compuestos fenólicos solubles en agua (Randhir et al., 2004; Eghdami and Sadeghi, 2010). Sin embargo, se ha reportado que solventes orgánicos mezclados con agua son mejores extractores de metabolitos que los solventes orgánicos absolutos (Sultana et al., 2009; Do et al., 2014).

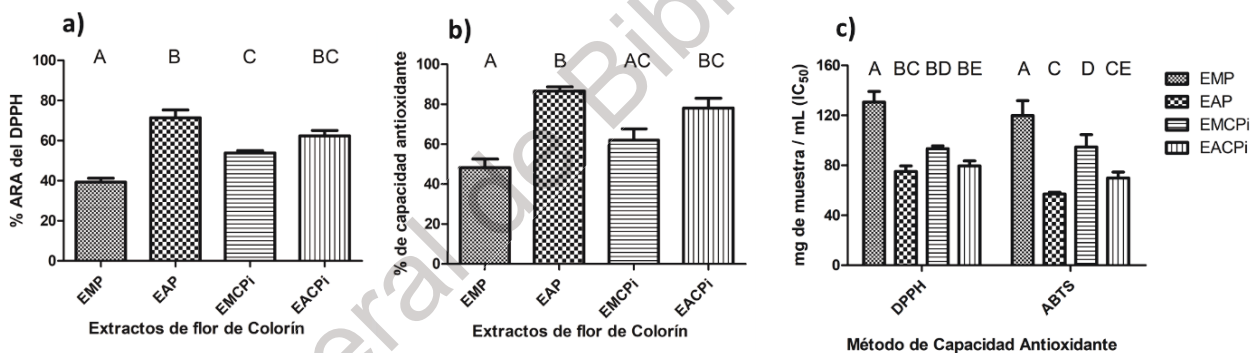


Figura 4. Actividad antioxidante de extractos acuosos (EA) y extractos metanólicos (EM) de pétalo (P) y cáliz-pistilo (Cpi) de flor de *Erythrina americana* Miller en muestras fresca. N=3, r=3, ANOVA una vía, prueba de Tuckey, $p < 0.05$. Letras diferentes indican diferencia significativa. Porcentaje de a) actividad antirradical por el método de DPPH, $F = 26.57$ y b) capacidad antioxidante por el método de ABTS+ en un gramo de muestra fresca, $F = 14.92$. c) cantidad de muestra fresca (expresada en mg de flor de Colorín) para alcanzar el 50 % (IC₅₀) de inhibición del radical (DPPH y ABTS+), $F_{\text{muestra}} = 29.09$, $F_{\text{método}} = 3.585$ $p = 0.0635$, $F_{\text{interacción}} = 0.6809$ $p = 0.5674$.

Es recomendable que al menos dos métodos de actividad antioxidante se apliquen para obtener información más comprensible acerca del material de estudio. Con el método de ABTS se puede medir la actividad de los compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el método de DPPH solo mide la actividad de los

compuestos capaces de disolverse en un medio orgánico. Además, ABTS posee más picos de absorbancia en la lectura del espectrofotómetro (Pérez-Jiménez et al., 2008). En este caso, la actividad antioxidante de cada método no es significativo entre el grupo de muestras (Fig. 4, a y b). Por otra parte, la actividad antioxidante del extracto acuoso de pétalo de Colorín es más alta que el resto de los grupos, incluso que el extracto metanólico de pétalo. Esto se correlaciona a los altos niveles de Flavonoides Totales y Taninos Condensados del extracto acuoso de pétalo (EAP) medidos anteriormente, los cuales reflejan el efecto de capacidad de inhibición del radical oxidativo.

Por otra parte, los niveles de compuestos fenólicos y actividad antioxidante medidos en este estudio son superiores en un 20% y 800%, respectivamente, a los obtenidos en flores maduras de Colorín en el trabajo de (Bernardino-Nicanor et al., 2016), posiblemente a la procedencia de origen del material biológico. No obstante, existen otras Fabáceas con mayores niveles de fenoles totales, como las flores de *Bauhinia kockiana* (82.8 mg Eq de A.G./g) (Chew et al., 2009), o de *Anthyllis aurea* (108.9 mg Eq de A.G./g) (Gođevac et al., 2008). Aunque puede ser comparado a otras Fabáceas como las flores de *Astragalus compactus* (Naghiloo et al., 2012), con similar cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante. A pesar de que la actividad antioxidante de EAP es alta en ambos métodos de ABTS y DPPH, la cantidad de muestra necesaria para inhibir el 50% del radical IC_{50} (Fig. 4, c) es muy alta y por lo tanto posee una actividad antioxidante baja de acuerdo a la clasificación de (Kuethe and Efferth, 2010) que el IC_{50} debe ser menor a 0.1 mg de muestra / mL. Si lo comparamos al alcaloide aislado y purificado erisodina extraído de cotiledón de semilla de Colorín, este posee una mayor actividad antioxidante con IC_{50} de 0.012 mg/mL (Ibarra Estrada et al., 2011).

VI.3. Obtención de compuestos presentes en flor de Colorín a través de Espectrometría de Masas/Cromatografía de Gases (EM/CG).

Tabla 3. Resumen de compuestos orgánicos de pétalo de Colorín obtenidos de EM/CG. m/z, relación de masa-carga; min de retención, minuto de retención en la columna EM/CG; P. M., peso molecular.

Núm.	Nombre del compuesto	m/z	Min. de Retención	P. M.	Función	Referencia
5	Ácido Butanedioico, éster bis (trimetilsilil)	99	5.519	262	Precursor de poliésteres. Y producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Disruptor endocrino potencial.	USEPA, 2012
49	Ácido Hexadecanoico, éster trimetilsilil (Ácido palmítico TMS)	157	17.521	328	Actividad anti-inflamatoria y antioxidante, nematocida, pesticida y larvicida potente de mosquito	Rahuman et al., 2000; Aparna et al., 2012
59	Ácido Linoleico éster trimetilsilil	122	19.744	352	Ácido graso poliinsaturado. Efecto antiinflamatorio. Forma radicales lipídicos que en combinaciones con compuestos fenólicos puede ser sinérgico en efecto antioxidante o efecto prooxidante.	Peyrat-Maillard et al., 2003
69	9-Octadecenamida, (Z) (Andogen 73)	124	21.479	281	Es una amida del ácido oleico (ácidos grasos). Induce sueño en animales e interactúa con los sistemas de neurotransmisores y receptor CB1 del sistema regulado por cannabinoides.	NCBI, 2019
92	1-Monopalmitin éster trimetilsilil	164	25.1	474	Glicérido de un ácido graso y un glicerol. Componentes mínimos de tejidos de plantas y animales. Detergente fuerte y efecto disruptor en membrana.	Wishart et al., 2018; Gosh et al., 1997
116	Stigmasterol éter trimetilsilil	324	33.676	484	Es un fitoesterol. Utilizado como aditivo en alimentos, como antiinflamatorio. Representa el 0.1% de lípidos en plantas. Resistente a oxidación.	Yang 2007
113	Ácido Tetracosanoico, éster trimetilsilil	147	31.041	440	Ácido graso saturado de larga cadena (Ácido lignocérico) presente en paredes celulares de plantas. Es un bioproducto de la producción de lignina.	NCBI, 2019
118	Tocoferol- γ -tms-derivado (masa alta ajustada=100%)	77	37.85	488	Compuesto por varios fenoles. Actividad antioxidante. Menos que Tocoferol alfa.	NCBI, 2019
53	Mio-Inositol, 1, 2,3 4,5,6-hexakis-O-(trimetilsilil)-	99	18.627	612	Compuesto orgánico de la fam. de polialcoholes presente en las membranas plasmáticas. Señalización y moléculas mensajeras secundarias.	NCBI, 2019
32	D-(-)-Fructofuranosa, pentakis(trimetilsilil) éter (isómero 1)	208	14.106	540	Monosacárido soluble en agua, alcohol y o éter. Presente en todas las frutas dulces	NCBI, 2019
72	13-Docosenamida, (Z)-	217	21.793	337	Causa movilidad reducida y ligera disminución de la atención en ratas	NCBI, 2019
83	Oripavina	232	23.116	313	Alcaloide opiáceo (tebaína). Potencial analgésico comparado a la morfina. Toxicidad severa que causan convulsiones tónicas hasta la muerte en ratas.	NCBI, 2019

Ver Apéndice I, Tabla 9

10 mg de muestra liofilizada de pétalo + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 μ L agente derivatizante (N,O-bis(trimetilsilil)trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m) en modo splitless temperatura del inyector 250°C y el tiempo de splitless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min.

La oleamida (9-Octadecenamida, (Z) ó Andogen 73) encontrada en el extracto de pétalo de Colorín en este estudio (Tabla 5) es un compuesto de los ácidos grasos que tiene su propiedad bioactiva en la depresión del sistema cannabinoide del Sistema Nervioso Central en animales (NCBI, 2019) e induce el sueño. La oripavina (alcaloide) funciona como un analgésico comparado a la morfina, pero a dosis altas causan convulsiones y muerte en ratas (Yeh, 1981). Esto se correlaciona a la actividad de la flor de Erythrina sp. reportada como sedativa (García-Mateos et al.,

2001) y ansiolítica con 500 mg de flor/kg (Bonilla Rodríguez, 2013). Además, se encontró la presencia del compuesto del Ácido Hexadecanoico, éster trimetilsilil, el cual se ha reportado con actividad antioxidante y antiinflamatoria (Aparna et al., 2012), actividad pesticida, es especial contra larvas de mosquito (Rahuman et al., 2000) y actividad antimicrobiana (Abubakar et al., 2016).

Esto también se enlaza al efecto inhibitorio del crecimiento de algunas bacterias que presentó el extracto de pétalo de Colorín en un estudio anterior (Bata-García, 2014). Hay una cantidad de ácidos grasos como el ácido linoleico, que tiene implicaciones antiinflamatorias y forma parte de la ruta bioquímica de la oxidación de los lípidos y efecto antioxidante en sinergismo con compuestos fenólicos (Peyrat-Maillard et al., 2003). Además, el compuesto ácido Tetracosanoico, éster trimetilsilil es un bioproducto de la lignina, el cual es un compuesto de la pared celular en plantas que da rigidez estructural (NCBI, 2019). Por otro lado, existen hongos que pueden degradar estos compuestos de la lignina y aprovecharlos como sustrato para el crecimiento y desarrollo (ten Have and Teunissen, 2001). El compuesto 1-Monopalmitin éster trimetilsilil puede funcionar como detergente y provocar disrupción en las membranas celulares (Ghosh et al., 1997).

Los compuestos orgánicos del extracto de cáliz de Colorín son similares a los de pétalo (Tabla 4). El compuesto 1-Hexadecanol, el cual es un derivado de los terpenos (metabolitos especializados), está reportado para tener actividad antimicrobiana contra *Mycobacterium tuberculosis* a una concentración mínima inhibitoria de 8µg/mL (Cantrell et al., 2001). Otro metabolito importante y con efecto antifúngico es el ácido benzoico, le cual se transforma a benzoato y causa interferencia en la vía de glucólisis y cambios de pH a nivel celular del microorganismo (Krebs et al., 1983). Se ha reportado que derivados del ácido benzoico pueden afectar el crecimiento micelial del hongo *Eutypa lata* a través del tiempo (Amborabé et al., 2002). El alcaloide presente (uleina, 1,12-dihidro-13-hidroxi) está reportado para tener un efecto anti-malaria con una concentración IC₅₀ de 1 µg/mL (Dolabela et al., 2015). También, existen otros dos alcaloides, de los cuales la equitamida no se conoce una actividad biológica (Salim et al., 2004) y el aspidospermidin tiene efecto a nivel de receptores adrenérgicos en tejidos (Deutsch

et al., 1994). Por otra parte, la estructura de cáliz presenta una gran cantidad de compuestos polisacáridos y ésteres lipídicos (ver Apéndice 1, Tabla 7) en comparación a la estructura de pétalo.

Tabla 4. Resumen de compuestos orgánicos de cáliz de flor de Colorín obtenidos de EM/CG. m/z, relación de masa-carga; min. de retención, minuto de retención; P. M., peso molecular.

Núm.	Nombre del compuesto	m/z	Min. de Retención	P. M.	Función	Referencia
62	Ácido Hexadecanoico, éster trimetilsilyl (Ácido palmítico TMS)	157	17.533	328	Actividad anti-inflamatoria y antioxidante, nematocida, pesticida y larvicida potente de mosquito	Rahuman et al., 2000; Aparna et al., 2012
74	Ácido Linoleico éster trimetilsilil	252	19.777	352	Ácido graso poliinsaturado. Efecto antiinflamatorio. Forma radicales lipídicos que en combinaciones con compuestos fenólicos puede ser sinérgico en efecto antioxidante o efecto prooxidante.	Peyrat-Maillard et al., 2003
121	Stigmasterol éter trimetilsilil	324	33.644	484	Es un fitoesterol. Utilizado como aditivo en alimentos, como antiinflamatorio. Representa el 0.1% de lípidos en plantas. Antioxidante	Yang 2007
104	1-Monopalmitin éster trimetilsilil	164	25.057	474	Glicérido de un ácido graso y un glicerol. Componentes mínimos de tejidos de plantas y animales. Detergente fuerte y efecto disruptor en membrana.	Wishart et al., 2018
60	Ácido Hexadecanoico, éster trimetilsilyl (Ácido palmítico TMS)	231	17.446	328	Actividad anti-inflamatoria y antioxidante, nematocida, pesticida y larvicida potente de mosquito	Rahuman et al., 2000; Aparna et al., 2012
17	L-Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	83	8.924	273	Derivado de un aminoácido, precursor de piroglutamato. Relacionado a procesos de detoxificación de células vegetales y resistencia a sequía.	Paulose et al., 2013
97	9-Octadecenamida, (Z) (Armid O)	181	23.214	281	Es una amida del ácido oleico (ácidos grasos). Induce sueño en animales e interactúa con los sistemas de neurotransmisores y receptor CB1 del sistema regulado por cannabinoides.	NCBI, 2019
99	5 α -Cholest-8-en-3-one, 14-metil-	173	24.092	398	Lípidos de membrana. Señalización de interacciones proteína-proteína.	Simons & Toomre, 2000
93	Ácido Eicosanoico, éster trimetilsilil	64	22.487	384	Intermediario en la formación de otros ácidos grasos y elongación de ácidos estearicos. Importante en ácidos grasos vegetales.	NCBI, 2019
83	2-Hexadecanol	184	21.099	242	Alcohol graso (derivado de terpeno). Inhibición de <i>M. tuberculosis</i> (CMI 8 μ g/mL)	
22	Benzoic acid, 4-[(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester	85	10.637	282	Intermediario para la producción de fenoles (metabolitos especializados). Actividad antifúngica, interferencia a nivel de glucólisis.	Krebs et al., 1987; Amorabé et al., 2002
70	Curan, 16,17-didehidro-,20.xi.- (Equitamidina)	222	19.397	280	Alcaloide	Salim et al., 2004
95	Uleine, 1,12-dihydro-13-hydroxy-	180	22.91	284	Alcaloide. Actividad antimalaria	Dolabela et al., 2015
71	Aspidospermidin-17-ol, 1-acetyl-19,21-epoxy-15,16-dimethoxy-	128	19.538	414	Indol-alcaloide presente en el género <i>Aspidospera</i> . Actividad de bloqueo adrenérgico de varios tejidos urinarios	Deutsch et al., 1994

Ver Apéndice I, Tabla 10

10 mg de muestra liofilizada de cáliz + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 µL agente derivatizante (N,O-bis[trimetilsilil]trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 µm) en modo spleless temperatura del inyector 250°C y el tiempo de spleless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min.

Tabla 5. Resumen de compuestos orgánicos de pistilo de Colorín obtenidos de EM/CG. m/z, relación de masa-carga; min. de retención, minuto de retención en la columna EM/CG; P. M., peso molecular.

Núm.	Nombre del compuesto	m/z	Min. de Retención	P. M.	Función	Referencia
64	Ácido Hexadecanoico, éster trimetilsilyl (Ácido palmítico TMS)	157	20.319	328	Actividad anti-inflamatoria y antioxidante, nematocida, pesticida y larvicida potente de mosquito	Rahuman et al., 2000; Aparna et al., 2012
123	Stigmasterol éter trimetilsilil	324	39.368	484	Es un fitoesterol. Utilizado como aditivo en alimentos, como antiinflamatorio. Representa el 0.1% de lípidos en plantas. Antioxidante	Yang 2007
68	α-Ácido Linoleico éster trimetilsilil	265	23.658	350	Ácido graso poliinsaturado. Efecto antiinflamatorio. Forma radicales lipídicos que en combinaciones con compuestos fenólicos puede ser sinérgico en efecto antioxidante o efecto prooxidante.	Peyrat-Maillard et al., 2003
119	(+)-α Tocoferol, O-trimetilsilil-	259	38.013	502	Tipo de vitamina E. Actividad antioxidante variable, de acuerdo al número de los grupos metilos y al tipo de isoprenoides	NCBI, 2019
74	Oripavina	229	29.599	297	Alcaloide opiáceo (tebaína). Potencial analgésico comparado a la morfina. Toxicidad severa que causan convulsiones tónicas hasta la muerte en ratas.	NCBI, 2019
129	Neuroporaxantina	480	41.601	498	Es un tipo de caratenoide presente en plantas y algunos hongos, como <i>Gibberella fujikuroi</i> y <i>Neurospora crassa</i>	Gupta & Ayyachamy, 2012
89	Aucubina, éter hexakis (trimetilsilil)	269	32.971	778	Monoterpenoide relacionado a la supresión de TNF-α (factor alfa de necrosis tumoral). Mecanismo de defensa contra hervívoros. Actividad antiinflamatoria.	Bone & Mills, 2013
38	1,5-Anhidro-D-sorbitol, éter tetrakis(trimetilsilil)	230	15.776	452	Producto metabólico de 1,5 anhidro-D-fructosa. Suplemento alimenticio con beneficios como antioxidante, antimicrobiano y antidiabético	NCBI, 2019
78	Codeína éter metil	232	30.25	313	Es un alcaloide opiáceo que funciona como metabolito tipo morfina activa, sobre el receptor µ-opiáceo. Actividad anti-inflamatoria	Moore, 2013
76	Cefalotaxina, 3-deoxi-3,11-epoxi-, (3α, 11α)-	247	30.174	313	Alcaloide benzazepino heteropentacíclico. Actividad anti-leucémica.	Isono & Mori, 1995
120	Campesterol	284	38.728	400	Fitoesterol. Función parecida al colesterol, transporte de lípidos vía sérica	NCBI, 2019

10 mg de muestra liofilizada de pistilo + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 µL agente derivatizante (N,O-bis[trimetilsilil]trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 µm) en modo spleless

temperatura del inyector 250°C y el tiempo de splitless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min

Algunos compuestos del extracto de pistilo siguen siendo similar a los otros de cáliz y pétalo (Tabla 5). Este extracto presenta un ácido caroténico llamado neuroropaxantina, el cual fue descubierto primeramente en el hongo *Neurospora crassa* y cumple las funciones de protección UV y radiación solar como cualquier pigmento carotenoide (Gupta and Ayyachamy, 2012). El compuesto aucubina, un monoteperno, se ha reportado que tiene relación a la disminución de la producción del factor de necrosis tumoral (TNF- α), el cual está involucrado en la regulación de la división celular y procesos pro-inflamatorios que involucran al sistema inmune de mamíferos (Bone and Mills, 2013). Otros alcaloides identificados en el extracto de pistilo son codeína, el cual presenta una actividad de depresión del sistema nervioso igual que la oripavina y la morfina (Moore, 2013), y cafalotaxina, la cual presenta actividad antileucémica y antitumores en humanos (Isono and Mori, 1995).

En general, los compuestos orgánicos que presentan los extractos de pétalo, cáliz y pistilo son ricos en glúcidos y ácidos grasos, los cuales constituyen a la flor como un platillo nutritivo y preferido en algunas comunidades mexicanas (Alcorn, 1984; Garín-Aguilar et al., 1997; García-Mateos et al., 2001).

VI.4. Determinación del efecto de extractos metanólicos y acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos.

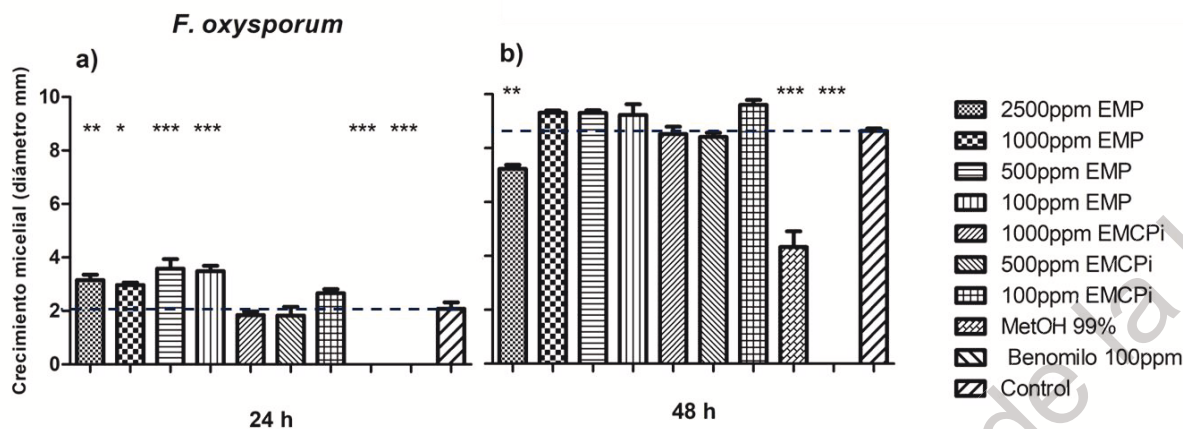


Figura 5. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en a) 24 h y b) 48 h. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$. N por tratamiento = 4.

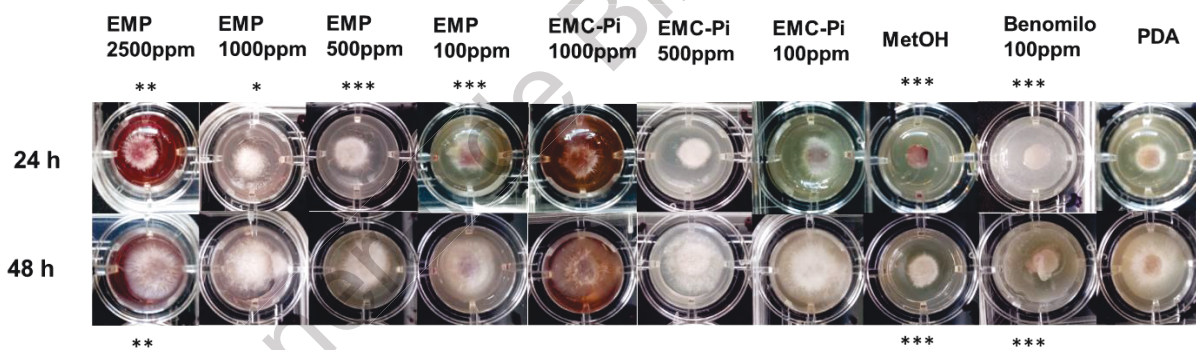


Figura 6. Imágenes del crecimiento micelial de *F. oxysporum* en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín. 100-2500ppm Eq. de ácido gálico (A.G.). EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

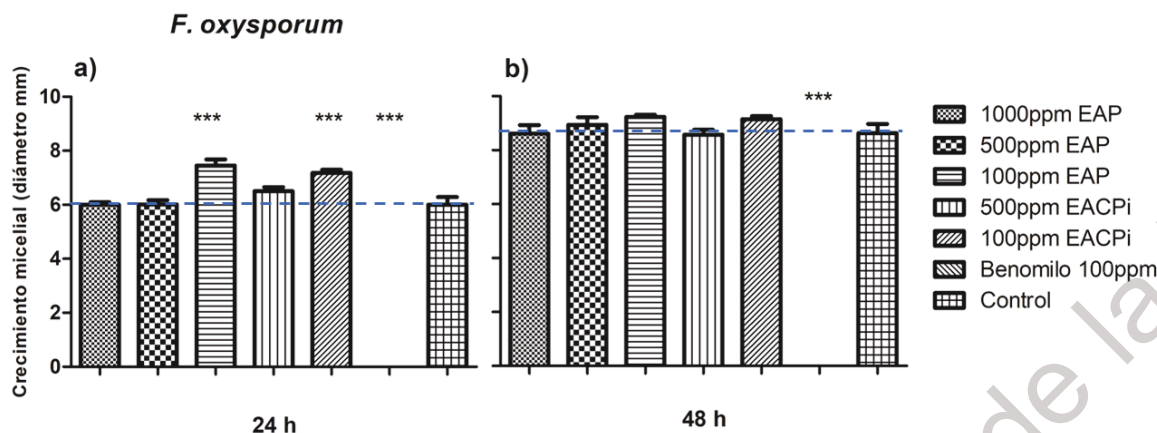


Figura 7. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$. N por tratamiento = 4.

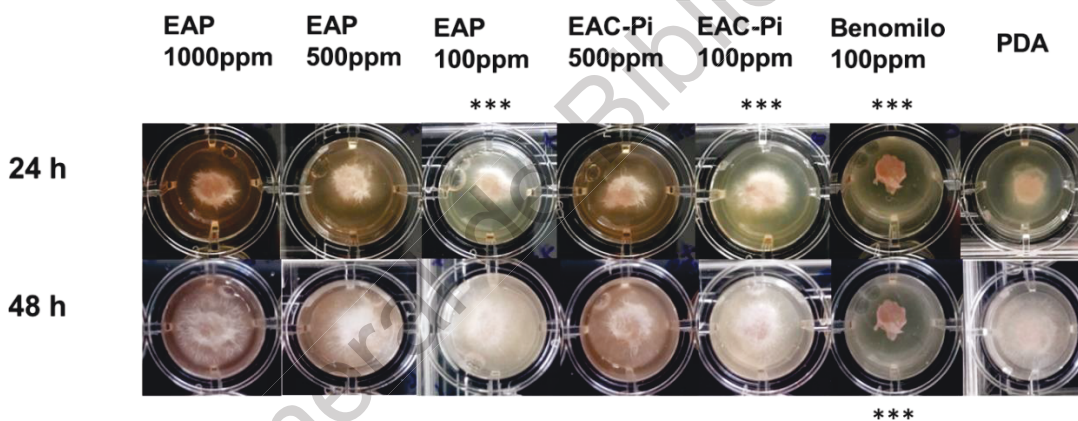


Figura 8. Imágenes del crecimiento micelial de *F. oxysporum* en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

En este estudio, el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* no es afectado negativamente por los extractos metanólicos de pétalo y cáliz-pistilo de flor de Colorín (Fig. 5 y 6). Sin embargo, en todas las concentraciones (100-2,500 ppm) del extracto metanólico de pétalo (EMP) se observa un aumento del crecimiento micelial de *F. oxysporum* dentro de las primeras 24 h con respecto al grupo control; mientras que no hubo diferencias en las

concentraciones del extracto metanólico de cáliz-pistilo (EMCPi). El fungicida sintético Benomilo a 100 ppm inhibe totalmente el crecimiento del hongo, tal y como lo reportan en otros estudios (Vargas-Hernández et al., 2014). En la concentración de 2,500 ppm Eq. A.G. de EMP a las 48 h existe un efecto fungistático (crecimiento detenido en un 15% aproximadamente) del hongo con respecto al control, lo cual sugiere que el extracto tiene un efecto en el desarrollo a nivel celular-bioquímico, pero no un efecto biocida. De manera similar, las concentraciones bajas (100 ppm Eq A.G.) de extractos acuosos de pétalo (EAP) y de cáliz-pistilo (EACPi) tienen un efecto estimulante del crecimiento micelial en las primeras 24 h (Fig. 7, a). A las 48 h no hay diferencia entre los grupos de tratamientos y el control (Fig. 7 y 8).

Otros estudios indican que una concentración de 2,500 ppm Eq. A.G. de extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima* (Timbe) tampoco puede inhibir el crecimiento del hongo, pero una concentración de 40,000 ppm puede inhibir hasta el 29.5 % del hongo *F. oxysporum* (Vargas-Hernández et al., 2014). Una concentración de 0.8 mg/mL (800 ppm) del alcaloide erisovina asilado de semillas de Colorín, puede inhibir el crecimiento micelial de *F. oxysporum* hasta un 57 % y es similar a la inhibición hecha de fungicidas comerciales a la misma concentración (Ibarra Estrada et al., 2009). Por otro lado, extractos metanólicos y acuosos de hojas y tallos jóvenes de *Larrea tridentata* (Gobernadora) a una concentración de 2 mg/mL (2,000 ppm) de muestra puede inhibir hasta el 94 % (extracto metanólico) y el 41% (extracto acuoso) del crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Peñuelas-Rubio et al., 2017). Esto sugiere al extracto de *L. tridentata* como mejor extracto con actividad antifúngica y con dosis pequeñas que le confiere un gran rendimiento, que en comparación con el Colorín se ha utilizado más de 10 mg/ml de muestra para las distintas concentraciones interpoladas a cantidad de compuesto fenólico presente y que representaría un costoso gasto de material necesario para observar el efecto fungicida deseado. No obstante, se ha observado que a una concentración de 400 ppm de ácido gálico puede promover el crecimiento en medio líquido de *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, lo cual se correlaciona a lo encontrado en este estudio. Sin embargo, también facilita el aumento de enzimas involucradas en virulencia con el hospedero, como pectinasa, celulasa y amilasa (WU et al., 2009). Por esto último, es necesario realizar otros experimentos que corroboren el efecto a nivel bioquímico-celular en los hongos fitopatógenos, ya que no se requiere que la aplicación de extractos tenga un efecto negativo para el cultivo como el sector ecológico.

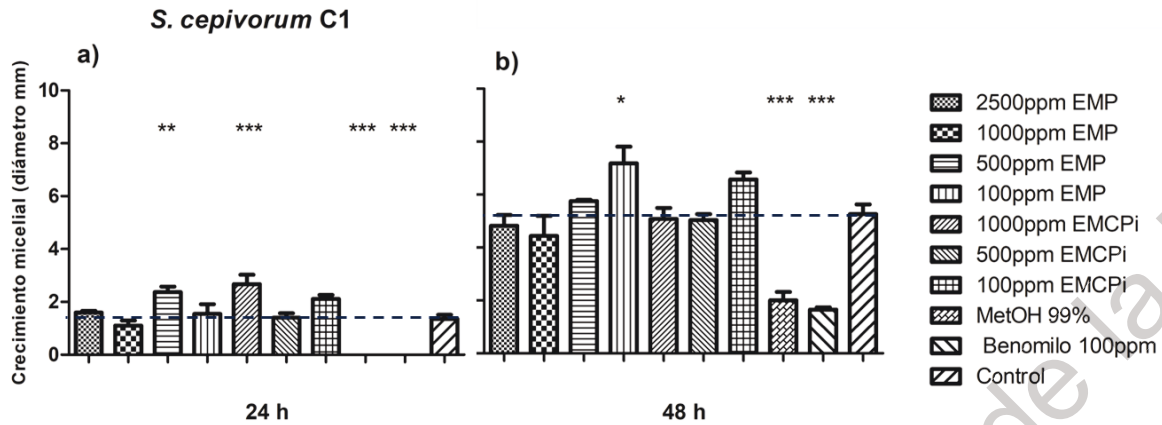


Figura 9. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium cepivorum* C1. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 18.93$, $F_{48h} = 18.47$. N por tratamiento = 4.

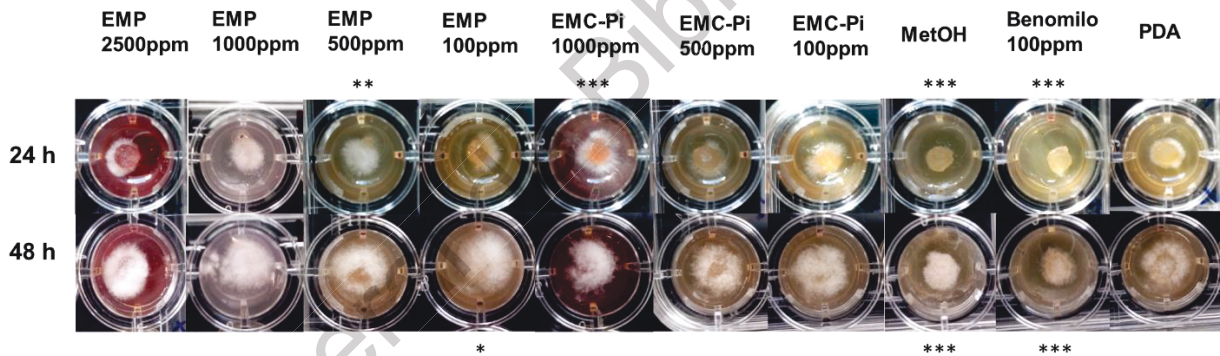


Figura 10. Imágenes del crecimiento micelial de *S. cepivorum* C1 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín. 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

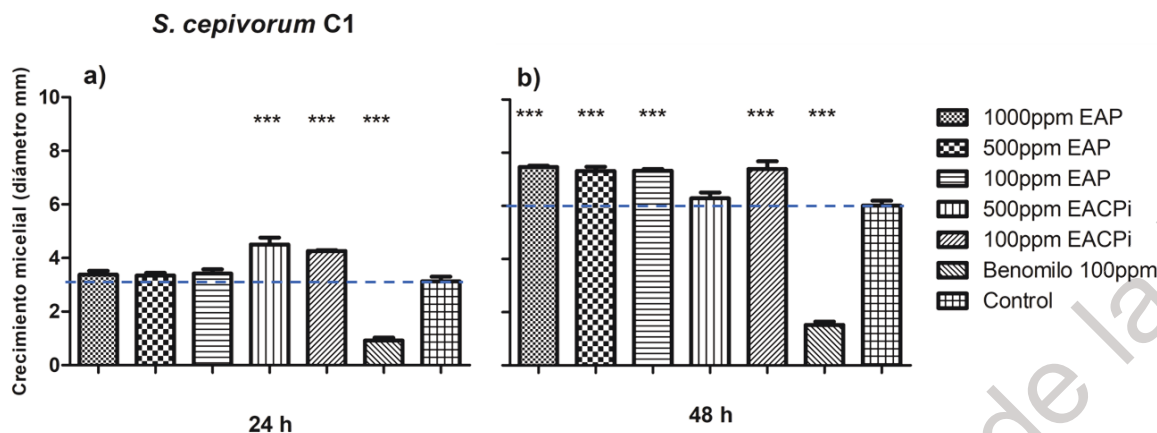


Figura 11. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium cepivorum* C1. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control. Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + Agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$

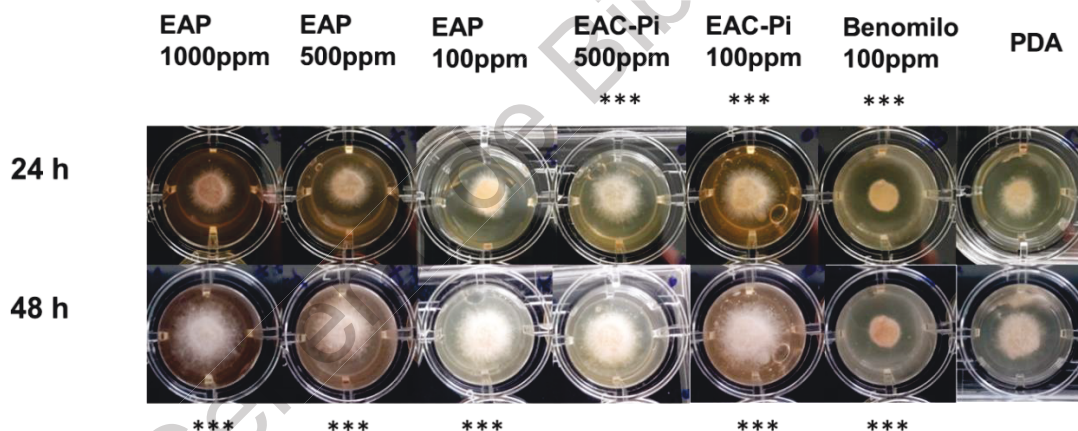


Figura 12. Imágenes del crecimiento micelial de *S. cepivorum* C1 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín. Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

De manera similar que *F. oxysporum*, *Sclerotium cepivorum* (Cepa 1) posee un crecimiento positivo en presencia de los extractos metanólicos y acuosos tanto de pétalo como de cáliz-pistilo. A concentraciones de 500 ppm Eq. de A.G. de EMP y 1000 ppm Eq. de A.G. de EMCPi existe un mayor crecimiento de 30 y 40 % en

comparación al grupo control en las primeras 24 h (Fig. 9 a, 10), respectivamente. Este efecto se ve normalizado con respecto al grupo control en las siguientes 24 h (48 h); sin embargo, ahora el crecimiento se ve aumentado en la concentración de 100 ppm Eq de A.G. de EMP. En cuanto a las extracciones acuosas, solo las de EMCPi a 100 y 500 ppm Eq. de A.G. presentan un mayor crecimiento micelial de *S. cepivorum* C1. No obstante, a las 48 h el mayor crecimiento se reflejó en todas las concentraciones acuosas de cada estructura floral, excepto el de 500 ppm Eq. A.G. de EMCPi que no presentó diferencias con respecto al grupo control (Fig. 11b, 12). Por otro lado, se reporta que no hay efecto fungicida con el benomilo 100 ppm sobre *S. cepivorum* C1 y solo inhibe hasta el 30% del crecimiento micelial. Esto corrobora la resistencia del patógeno a fungicidas sintéticos y que ha sido señalado como un problema para combatirlo en los cultivos de cebolla y ajo desde hace unas décadas (Arévalo Valenzuela et al., 2002; Ulacio-Osorio et al., 2006).

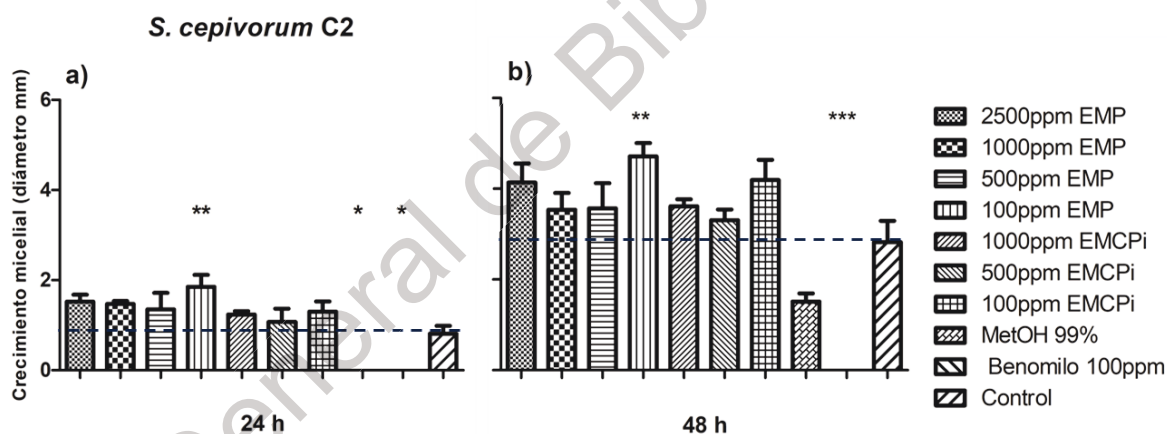


Figura 13. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium cepivorum* C2. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPi (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 9.69$, $F_{48h} = 16.02$.

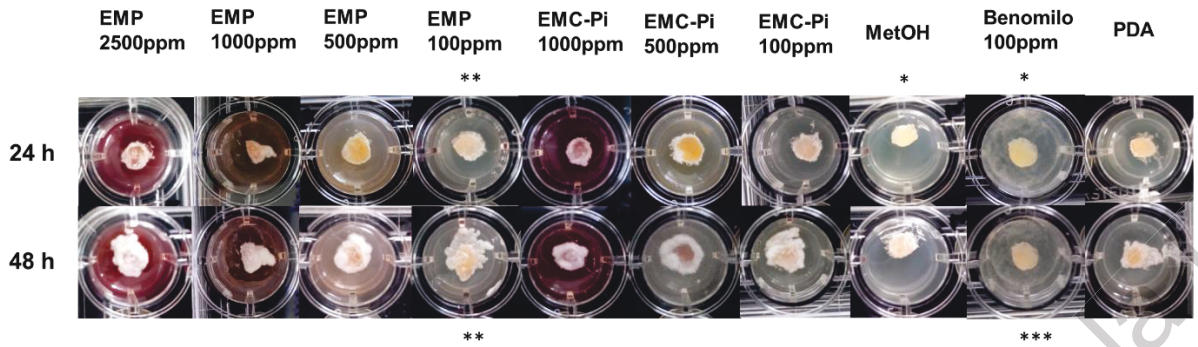


Figura 14. Imágenes del crecimiento micelial de *S. cepivorum* C2 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín). 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

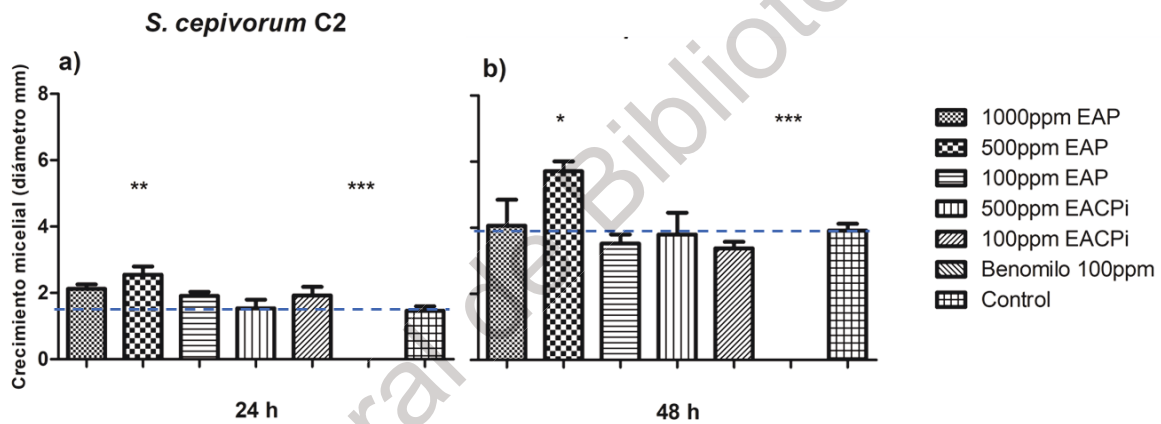


Figura 15. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium cepivorum* C2. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras. Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + Agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$. N por tratamiento = 4.

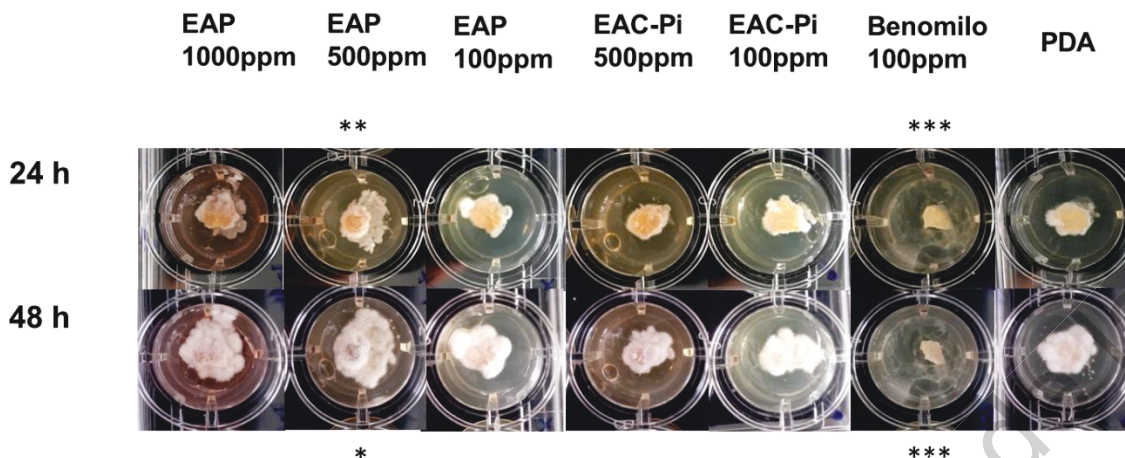


Figura 16. Imágenes del crecimiento micelial de *S. cepivorum* C2 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuosos de Pétalo), EACPi (Extracto Acuosos de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

Al igual que la cepa 1 de *S. cepivorum*, los extractos metanólicos y acuosos no tienen un efecto inhibitorio en *S. cepivorum* C2. En 100ppm de EMP existe un crecimiento de aproximadamente 40% con respecto al control y que permanece tanto en las 24 y 48 h. En 500 ppm de EAP, el comportamiento de aumento de crecimiento es similar al extracto metanólico de pétalo y se mantiene durante las 48 h. Sin embargo, a diferencia de *S. cepivorum* C1 que el crecimiento es variable a través del tiempo, *S. cepivorum* C2 se mantiene constante en esas concentraciones donde hay diferencia. No hay diferencias significativas en cuanto a los extractos de EMCPI y EACPi.

Por otro lado, se ha utilizado fracciones de etil-acetato de extractos de diclorometano de albura y duramen del tronco de Palo Dulce (*Eysenhardtia polystachya* Ortega), una Fabaceae endémica de México, contra *S. cepivorum*, los cuales inhiben 80 y 73 % del crecimiento micelial, respectivamente, a una concentración de 50 mg/mL (50,000 ppm) de muestra (Bernabé-Antonio et al., 2017). Esto también es comparable al fungicida comercial (Cercobin, 50mg/mL) utilizado en ese estudio, el cual inhibe el 100% del crecimiento micelial del hongo. Sin embargo, en este trabajo no hay comparación de los extractos de flor de Colorín con el fungicida comercial

utilizado (Benomilo), el cual también inhibe a 100 ppm casi el 100% del crecimiento micelial (Fig. 14 y 16).

Por otra parte, la utilización de un agente promotor de crecimiento y desarrollo, como lo puede ser la utilización de extractos de flor de Colorín, podría sugerir una ventaja para combatir a la enfermedad de pudrición blanca en cultivos de cebolla y ajo por *Sclerotium cepivorum*. Lo anterior, por la implementación de estrategias de manejo de la plaga al realizar una germinación de esclerocios (estructuras de resistencia a factores externos) en tiempos previos de cultivo para después ser eliminado por agentes fungicidas (Ulacio-Osorio et al., 2006; Argüello et al., 2009).

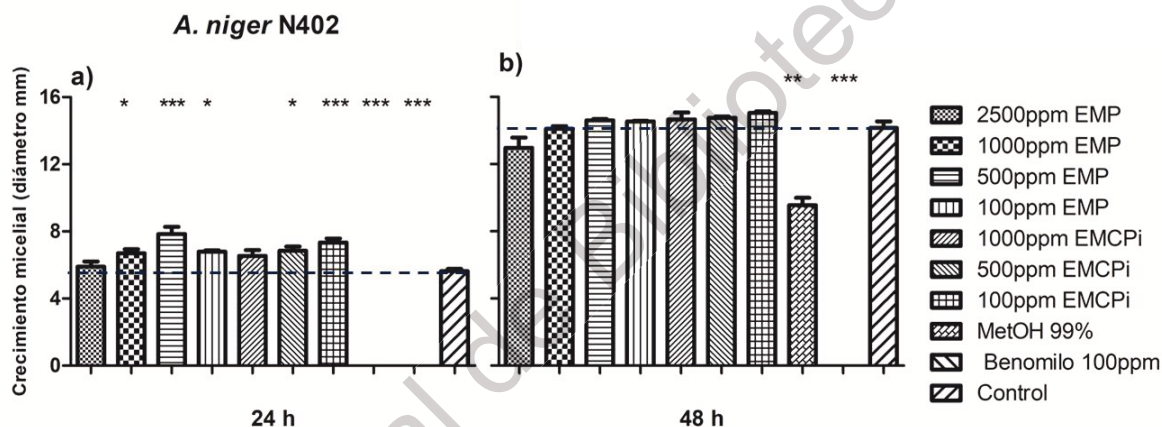


Figura 17. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus niger* N402. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 136.7$, $F_{48h} = 229.9$. N por tratamiento = 4.

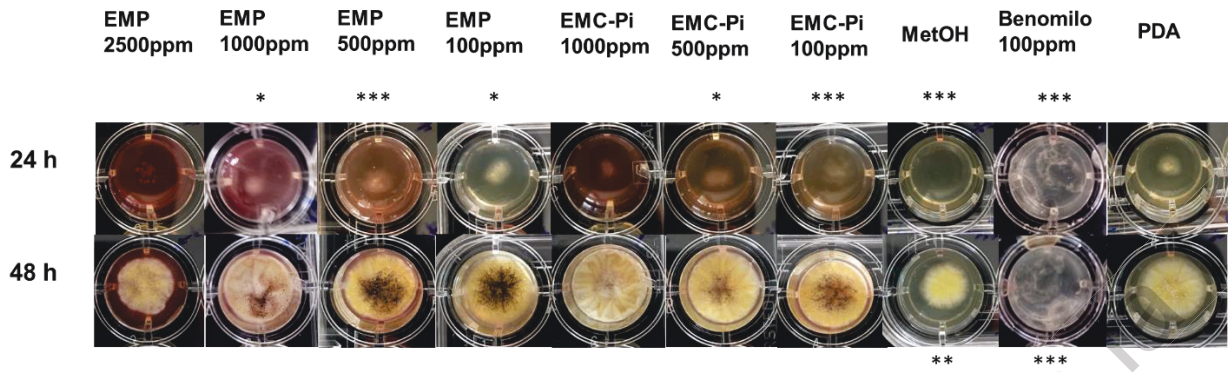


Figura 18. Imágenes del crecimiento micelial de *A. niger* N402 en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín. 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua) * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

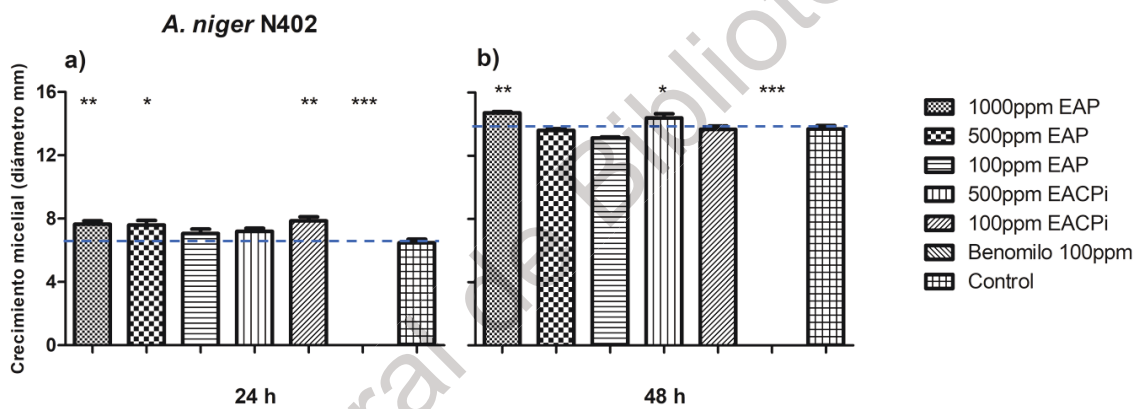


Figura 19. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *A. niger* N402. Barras son promedios \pm error estándar de las muestras. Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + Agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Donett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$. N por tratamiento = 4.

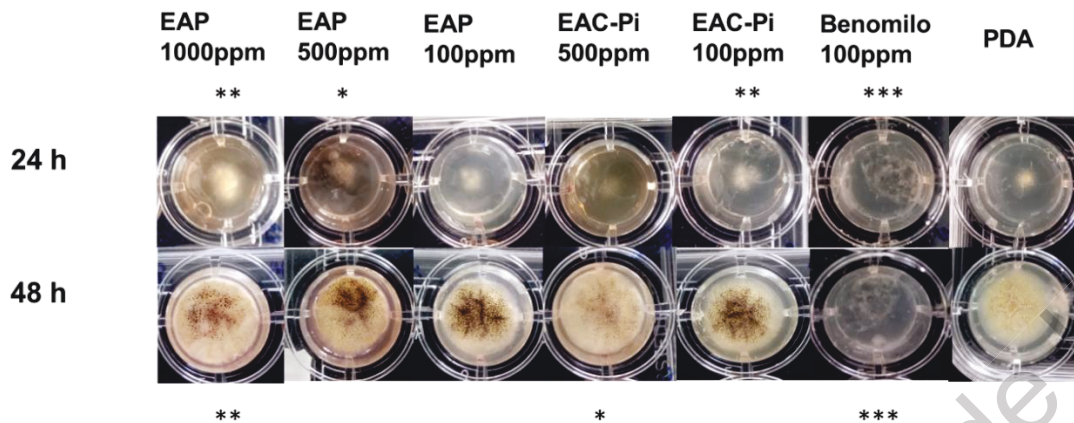


Figura 20. Imágenes del crecimiento micelial de *A. niger* N402 en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

El crecimiento micelial de *Aspergillus niger* N402 se incrementó en las concentraciones menores de extractos metanólicos de pétalo (100, 500 y 1000 ppm Eq. A.G.), donde 500 ppm EMP tuvo un aumento de cerca de un 30% con respecto al grupo control. También, las concentraciones menores de extractos metanólicos de cáliz-pistilo (100 y 500 ppm Eq. A.G.) tuvieron un efecto positivo al crecimiento, donde 100 ppm EMCPI aumento en un 20% con respecto al control. Todo lo anterior dentro de las primeras 24 h, ya que en 48 h el crecimiento en todas las concentraciones fue normalizado.

Por otra parte, los extractos acuosos de pétalo muestran un efecto aumentado en las concentraciones de 500 y 1000 ppm Eq A.G., y en la concentración de 100 ppm Eq A.G. de EACPi con respecto al control en las primeras 24 h. Después, a las 48 h el crecimiento del hongo es más alto en las concentraciones alta de EAP (1000 ppm) y EACPi (500 ppm). Aceites esenciales, como el carvacrol y el timol, aislados del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) tienen actividad fungicida de un 100% sobre *A. niger*, *A. flavus* y *A. ochraceus* a una concentración de 20 μ l/L (PASTER et al., 1995). Los extractos etanólicos de hoja de *Erythrina variegata* a una concentración de 3,000 μ g/mL muestran una actividad antifúngica alta contra *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, los cuales se comparan al fungicida

comercial Ketoconazole (10 μ g), seguida de extractos acuosos con menor efecto inhibitorio (Muthukrishnan *et al.*, 2014).

El crecimiento acelerado del hongo *A. niger* N402 entre 24 y 48 h puede deberse al contenido alto de azúcares de los extractos de pétalo y cáliz-pistilo, más en la parte de extracción acuosa, mismos que fueron observados en el análisis de espectrometría de masas/cromatografía de gases (ver Apéndice I). Dado lo anterior, se sugiere que el hongo está utilizando el extracto como sustrato y los componentes de los metabolitos secundarios o bioactivos es muy bajo que no tiene relevancia en la actividad antifúngica.

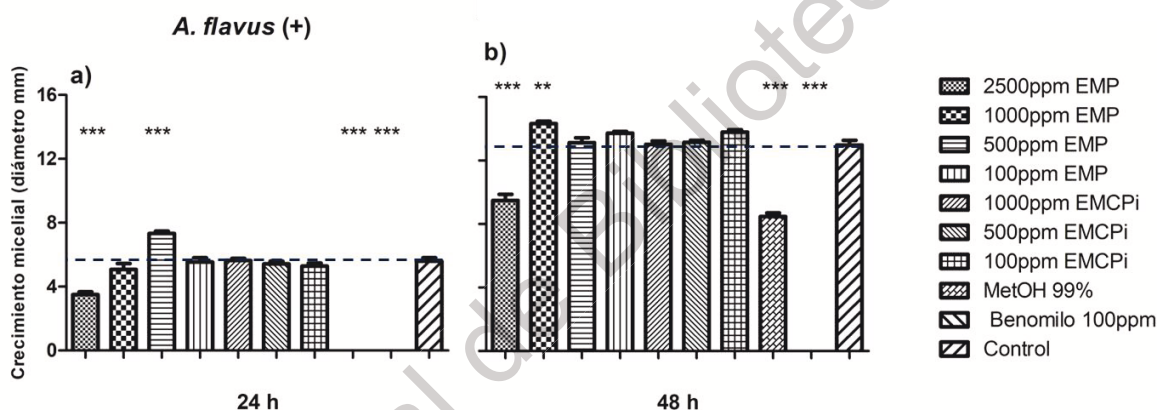


Figura 21. Efecto de los extractos metanólicos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* (+). Barras son promedios \pm error estándar de las muestras y línea azul punteada es el promedio del control (PDA + agua). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPi (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett. $F_{24h} = 155.1$, $F_{48h} = 389.5$. N por tratamiento = 4.

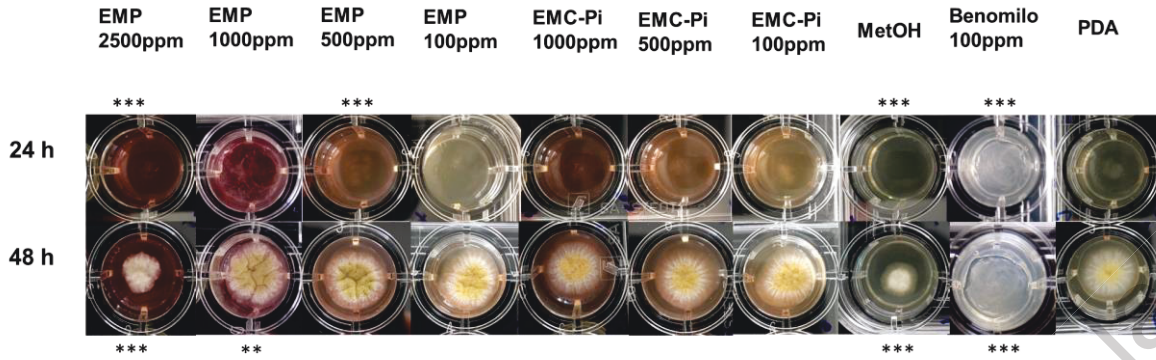


Figura 22. Imágenes del crecimiento micelial de *A. flavus* (+) en diferentes concentraciones de extractos metanólicos de flor de Colorín. EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPI (Extracto Metanólico Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua) * ($p < 0.05$), * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

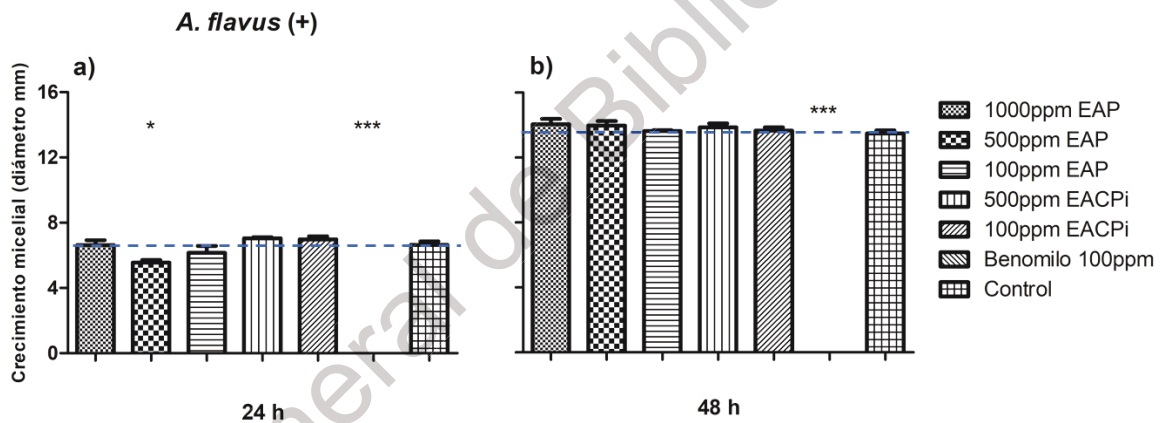


Figura 23. Efecto de los extractos acuosos de flor de Colorín sobre el crecimiento micelial de *A. flavus* (+). Barras son promedios \pm error estándar de las muestras. Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + Agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Donett. $F_{24h} = 39.95$, $F_{48h} = 135.8$. N por tratamiento = 4.

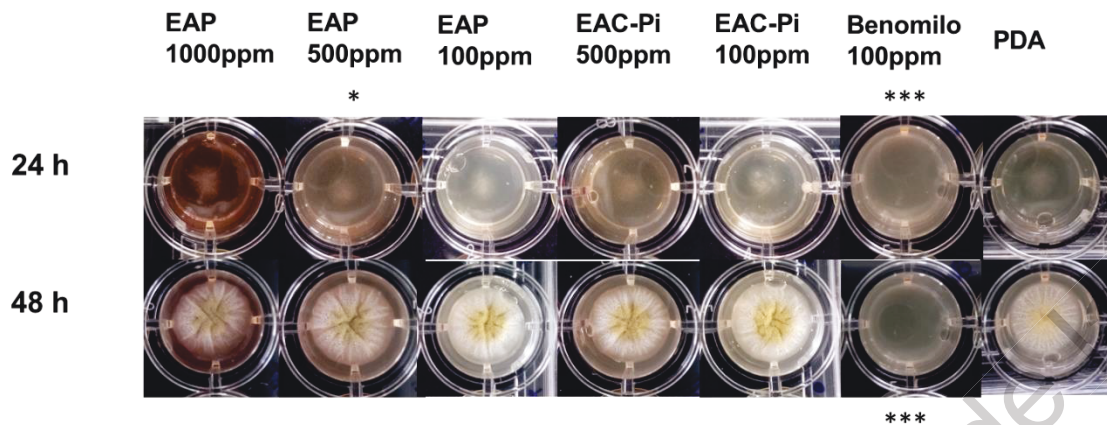


Figura 24. Imágenes del crecimiento micelial de *A. flavus* (+) en diferentes concentraciones de extractos acuosos de flor de Colorín). Muestras: 100-2500ppm Eq. de ácido gálico. EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), Benomilo (fungicida comercial Promyl 50) y Control (PDA + agua). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) indican diferencia significativa con respecto al grupo control. Análisis estadístico de promedios por prueba de Dunnett.

En cuanto a la especie *Aspergillus flavus* positivo a aflatoxina (+), se observa un incremento del crecimiento micelial en la concentración de 500 ppm Eq A.G. de EMP de un 32% aproximadamente con respecto al control. Sin embargo, el primer efecto inhibitorio del crecimiento micelial se presentó en 2,500 ppm Eq A.G. de EMP en *A. flavus* (+) con una reducción de 43% con respecto al control en las primeras 24 h (Fig. 21 a, 22). En las 48 h, sigue permaneciendo una actividad antifúngica en la concentración de 2,500 ppm de EMP con una reducción del crecimiento en 27%. Esto correlaciona el efecto que tienen los componentes encontrados en el EM/CG (Tabla 8): oripavina, ácido hexadecanoico y oleamida con actividad antioxidante y antimicrobiana, los cuales se sugiere no tienen efecto significativo en los demás hongos. No obstante, en la concentración de 1,000 ppm de EMP en las 48 h se presentó un efecto contrario, dando un crecimiento aumentado de más de 10% con respecto al control (Fig. 21 b, 22). En los extractos acuosos de pétalo a una concentración de 500 ppm Eq. A.G. hay una reducción del 17% del crecimiento micelial de *A. flavus* (+) en las 24 h (Fig. 23 a, 24). Sin embargo, a las 48 h no existe diferencia entre cada uno de los tratamientos con respecto al control (Fig. 23 b, 24).

El fenol monoterpénoide Carvacrol, aislado del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) presenta un efecto mínimo inhibitorio sobre el crecimiento de *A. flavus* a una concentración de 800 ppm (López-Malo et al., 2005). También, en otro estudio la extracción metanólica de hojas de *L. tridentata* muestra una inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *A. flavus* en un 93% a 100 mg/mL diluidos en medio PDA (Moreno-Limón et al., 2011). A pesar de que el extracto metanólico de pétalo de Colorín inhibe el crecimiento micelial de *A. flavus*, se requiere de una mayor cantidad de material biológico en comparación a otras plantas para obtener una concentración equivalente en compuestos fenólicos de 2,500 ppm. Es decir, se requiere de 1 g de pétalo / mL de solución de extracción metanólica para inhibir casi el 50% del hongo; mucho más que el extracto de *L. tridentata*.

Las dosis-respuesta de los extractos de flor de Colorín muestran un comportamiento variable de efectos, los cuales requieren de un análisis más robusto para definir concentraciones específicas para ver el máximo pico de respuesta. En este sentido, puede tratarse de un comportamiento hormético (hormesis), el cual es un concepto acuñado para referir las dosis requeridas para observar la actividad del tratamiento empleado (Duke et al., 2006), es decir, promotor o inhibidor del crecimiento micelial. En otros trabajos se realiza una mejora en la extracción de compuestos, como número de ciclo de extracciones de 24 h con diferentes solventes (hexano, diclorometano, metanol), los cuales se combinan con otros solventes (etil-acetato) para fraccionar y separar más los componentes (Bernabé-Antonio et al., 2017).

VI.5. Determinación del efecto de extractos metanólicos y acuosos de flor de Colorín sobre la esporulación de los hongos *Aspergillus niger* N402 y *A. flavus* (+).

Tabla 8. Cuantificación de número esporas de los hongos *Aspergillus niger* N402 y *A. flavus* (+) después de 72 h cultivo + tratamiento (extractos metanólicos y acuosos de flor de Colorín).

Tratamiento	Número de esporas por tratamiento ($\times 10^4$ / mL)			
	<i>A. niger</i> N402		<i>A. flavus</i> (+)	
2500ppm EMP	12 \pm 3.65	A	8.25 \pm 4.42	A
1000ppm EMP	27.25 \pm 9.94	AB	303.25 \pm 41.67	H
500ppm EMP	29.5 \pm 10.75	ABC	175 \pm 27.11	G
100ppm EMP	49.5 \pm 5.25	BCD	114.75 \pm 12.03	EF
1000ppm EMCPi	11 \pm 4.76	A	47.25 \pm 12.44	ABC
500ppm EMCPi	31.5 \pm 15.69	ABC	94 \pm 13.11	DEF
100ppm EMCPi	67 \pm 21.44	D	77.5 \pm 5.56	CDE
MetOH 99%	6 \pm 5.65	A	1.5 \pm 0.57	I
1000ppm EAP	60.75 \pm 13.81	CD	63.75 \pm 11.44	BCD
500ppm EAP	103.125 \pm 15.21	E	70 \pm 4.69	CD
100ppm EAP	200.25 \pm 69.55	G	119.25 \pm 6.94	F
500ppm EACPi	52 \pm 6.68	BCD	86.25 \pm 18.97	CDEF
100ppm EACPi	162 \pm 23.1	F	75.75 \pm 15.77	CDE
Benomilo 100ppm	0 \pm 0	H	0 \pm 0	I
Control	18 \pm 4.32	A	27.25 \pm 5.31	AB

EMP (Extracto Metanólico de Pétalo), EMCPi (Extracto Metanólico de Cáliz-Pistilo), EAP (Extracto Acuoso de Pétalo), EACPi (Extracto Acuoso de Cáliz-Pistilo), MetOH (Metanol), Benomilo (Fungicida comercial Promyl 50), Control (PDA + agua destilada). Los valores indican promedios \pm desviación estándar del número de esporas multiplicado por 10^4 por mL de solución. Comparación de medias por prueba de Tuckey, $p < 0.05$, letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos. $F_{A. niger} = 89.06$, $F_{A. flavus} = 93.39$. N por tratamiento = 4.

La esporulación en *A. niger* N402 no es inhibida por ningún tratamiento en ninguna concentración, excepto el fungicida comercial Benomilo que mata al hongo desde el principio. Al igual que el aumento del crecimiento micelial, existe aumento en el número de esporas en casi todos los tratamientos. Los extractos acuosos de pétalo son diferentes de los extractos metanólicos de pétalo, donde aquellos presentan mayor formación de esporas con respecto al control. El mayor número de esporas de *A. niger* N402 se produce con 100 ppm Eq. A.G. de EAP, el cual es casi 10 veces más que el producido por el grupo control (Tabla 8, *A. niger* N402). Además, en los otros tratamientos a 100 ppm, también se produce una cantidad importante de esporas con respecto al grupo control, que va disminuyendo a medida que se incrementa la concentración de cada extracto. Interesantemente, la alta cantidad

significativa de esporas a 100 ppm de EAP no se correlaciona a un aumento del crecimiento micelial del hongo en el mismo tratamiento (Fig. 23, a), lo que sugiere algún componente extraíble de manera hidrofílica que sirve de promotor en la vía esporulación y madurez reproductiva.

Por otro lado, en *A. flavus* (+) la esporulación incrementó en 1,000 ppm Eq. de A.G. de EMP, de igual manera que *A. niger* N402, 10 veces más que el grupo control PDA+agua. Los extractos acuosos y metanólicos de pétalo a 100 ppm Eq. de A.G. son muy similares en cuanto a cantidad de esporas, la cual también es mayor que el grupo control. Este caso, con la especie *A. flavus* (+), existe un pico de mayor esporulación que disminuye progresivamente con el aumento de la concentración del extracto, tanto como pétalo como cáliz-pistilo. Adicionalmente, se observa una tendencia no significativa de disminución del número de esporas (reducción del casi 70%) en la concentración máxima de EMP (2,500 ppm). Aceites esenciales de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) a una concentración de 2 μ l/L tienen actividad fungicida e inhiben el 100% la germinación de esporas de *A. niger* y *A. flavus* (PASTER et al., 1995). También, extracciones metanólicas de las plantas *Tamarix aphylla* (hojas) y *Morettia canescens* (parte área de la planta) a una concentración de 5 μ g/mL pueden inhibir la esporulación hasta un 92 y 97 %, respectivamente (Mohammedi & Atik, 2013). Por otro lado, aunque no se ha probado en *Aspergillus* spp., extracciones de resina hidrosoluble de *L. tridentata* con concentración de 4,000ppm puede inhibir hasta un 66% de número de esporas de *F. oxysporum* con respecto al control (Lira-Saldivar et al., 2006). Esto sugiere que mayor concentración del extracto de flor de Colorín podría inhibir el proceso de formación de esporas en algunos hongos.

Por otra parte, también se podría evaluar la capacidad de germinación de esas esporas sometidas a los diferentes tratamientos de extractos de flor de Colorín, ya que se ha reportado efectos en el desarrollo y viabilidad de germinación de esporas por interrupción en la vía de señalización de madurez reproductiva a causa de los componentes de los extractos (Paster et al., 1995; Mohammedi & Atik, 2013).

Se sabe que la especie *A. niger* es un microorganismo, aunque no patogénico, importante en la biotecnología, ya que produce enzimas extracelulares de interés

en la ciencia de los alimentos y ácido cítrico (Schuster et al., 2002). Dada la información de este trabajo, se puede sugerir utilizar los extractos de flor de Colorín en otro tipo de hongos no patogénicos y que sean de interés en la producción de biosistemas agrícolas, como control biológico (*Trichoderma* sp.), biofertilizantes (micorrizas), o bien, en biosistemas agroalimentarias, como *A. niger*.

VII. Conclusiones

Los metabolitos especializados de los extractos metanólicos y acuosos de flor (pétalo y cáliz-pistilo) de Colorín (*Erythrina americana* Miller) no tienen un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium cepivorum* C1 y C2 y el hongo *Aspergillus niger* N402. Sin embargo, existe una inhibición de 30% del extracto metanólico de pétalo a una concentración de 2,500 ppm sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* (+), lo cual es 25 veces menor al efecto de inhibición provocado por el fungicida comercial Promyl 50. Dado a lo anterior, se rechaza la hipótesis de que los extractos de flor de Colorín tienen actividad antifúngica sobre los hongos fitopatógenos igual o mayor a un fungicida sintético comercial. En las concentraciones más bajas de los extractos de flor de Colorín se observó un efecto contrario a lo establecido en la hipótesis de este trabajo, es decir, existe un efecto promotor de crecimiento micelial y de esporulación en algunas especies de los hongos.

VIII. Perspectivas

- Se requieren otros análisis de variables biológicas-bioquímicas para observar los efectos de extractos de flor de Colorín: actividad enzimática, proteínas de virulencia (SIX) de hongos patógenos (*F. oxysporum* f sp. *lycopercisi*), como se han hecho en otros estudios (Hong-Sheng et al., 2008). Efectos en la germinación de esporas de los hongos *Aspergillus* spp. por tratamientos de extractos de flor de Colorín.
- Aumento de la concentración de extracto metanólico de pétalo (EMP) para conocer la Capacidad Inhibitoria Mínima de crecimiento del hongo (CIM50), lo cual tendría que evaluarse el rendimiento y rentabilidad del producto.
- Obtención de muestras en condiciones ambientales distintas: otros metabolitos específicos y/o mayor cantidad de estos (observaciones en campo, no publicadas).
- Obtención de extractos por métodos diferentes: sonicación, fluido supercrítico, otros solventes alternos al metanol. Extracción, aislamiento y purificación de un grupo o grupos de metabolitos especializados.
- Pruebas del efecto de los extractos de flor de Colorín sobre otros microorganismos (patógenos o benéficos de interés agrícola).
- Efectos bioactivos de otras partes de la planta: las hojas presentan una mayor cantidad de actividad antioxidante (Bernardino et al., 2016); en plántula se producen metabolitos específicos diferentes a los de ejemplares adultos (Soto-Hernández & Miguel-Chávez, 2006), fácil de obtención del producto.

IX. Referencias bibliográficas

1. Absher, M. 1973. Hemocytometer Counting. *Tissue Culture: methods and applications*. Pages 395-397.
2. Abubakar, M., R. Majinda, M. N. Abubakar, and R. R. T. Majinda. 2016. GC-MS Analysis and Preliminary Antimicrobial Activity of *Albizia adianthifolia* (Schumach) and *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicines*. 3:3. doi:10.3390/medicines3010003. Available from: <http://www.mdpi.com/2305-6320/3/1/3>
3. Agrios, G. N. 2004. Losses caused by plant diseases. p. 29-45. *Plant Pathology*. Elsevier, Oxford, UK.
4. Amadioha, A.C., 2000. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protection* 19, 287–290.
5. Amaiike, S. y Keller, N. P. 2011. *Aspergillus flavus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49, 107–133.
6. Amborabé, B.-E., P. Fleurat-Lessard, J.-F. Chollet, and G. Roblin. 2002. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure–activity relationship. *Plant Physiol. Biochem.* 40:1051–1060. doi:10.1016/S0981-9428(02)01470-5. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942802014705>
7. Amer, J. B. 1991. The tetracyclic *Erythrina* alkaloids. *Journal of Natural Products* 54:329-363.
8. Aparna, V., K. V. Dileep, P. K. Mandal, P. Karthe, C. Sadasivan, and M. Haridas. 2012. Anti-Inflammatory Property of n-Hexadecanoic Acid: Structural Evidence and Kinetic Assessment. *Chem. Biol. Drug Des.* 80:434–439. doi:10.1111/j.1747-0285.2012.01418.x. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1747-0285.2012.01418.x>
9. Araújo-Júnior, J., Oliveira, M., Aquino, P., Alexandre-Moreira, M. and Sant'Ana, A. 2012. A phytochemical and Ethnopharmacological Review of the Genus *Erythrina*. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. Intech.
10. Arévalo Valenzuela, A., F. Delgadillo Sánchez, V. A. González Hernández, D. Nieto Angel, S. Osada Kawasoe, I. Torres Pacheco, and E. Zavaleta Mejía. 2002. *Revista fitotecnia mexicana publicada por la Sociedad Mexicana de Fitogenética*. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012036603>
11. Argüello, E., V. Yossen, E. Lucini, and M. Conles. 2009. Efecto del extracto de puerro (*Allium porrum* L.) sobre la supervivencia de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*. *AgriScientia*. 26. doi:10.31047/1668.298X.V26.N1.2750. Available from: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/agris/article/view/2750>
12. Bernabé-Antonio, A., A. Maldonado-Magaña, C. B. Ramírez-López, E. Salcedo-Pérez, J. C. Meza-Contreras, Y. González-García, F. A. López-Dellamary Toral, and F. Cruz-Sosa. 2017. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) and fungistatic activity of their extracts. *South*

- African J. Bot. 112:40–47. doi:10.1016/J.SAJB.2017.05.023. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629917300145>
13. Bernabé-Antonio, A., Maldonado-Magaña, A., Ramírez-López, C.B., Salcedo-Pérez, E., Meza-Contreras, J.C., González-García, Y., López-Dellamary Toral, F.A. y Cruz-Sosa, F. 2017. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) and fugistatic activity of their extracts. South African Journal of Botany 112, 40-47.
 14. Bernardino-Nicanor, A., J. L. Montañez-Soto, M. de los Á. Vivar-Vera, J. M. Juárez-Goiz, G. Acosta-García, and L. González-Cruz. 2016. Effect of Drying on the Antioxidant Capacity and Concentration of Phenolic Compounds in Different Parts of the *Erythrina americana* Tree. BioResources. 11:9741–9755. doi:10.15376/biores.11.4.9741-9755. Available from: <http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/10012>
 15. Bhalodia, N. R., Nariya, P. B and Shukla, V. J. 2011. Antibacterial and antifungal activity from flower extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. International Journal of PharmaTech Research. Vol. 3 No. 1 pp. 160-168.
 16. Bone, K., and S. (Simon Y. . Mills. 2013. Principles and practice of phytotherapy : modern herbal medicine. Churchill Livingstone.
 17. Bonilla Rodríguez, J. A. 2013. Determinación de la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las flores de *Erythrina berteroana* (Pito) en ratones NIH. Available from: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/3259/>
 18. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Wiss Technol*, 28, 25-30.
 19. Calle A., J., Pinzón S., R., Ospina, L. F., Medina, N. C., Carrión, A., and Bautista, E. 1997. Alcaloides isoquinolínicos de la corteza y flores de *Erythrina fusca* Loureiro. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* Núm. 26, 39-42.
 20. Cantrell, C., S. Franzblau, and N. Fischer. 2001. Antimycobacterial Plant Terpenoids. *Planta Med.* 67:685–694. doi:10.1055/s-2001-18365. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11731906>
 21. Carbonell, C., Cifuentes, D., Tello, J. y Cenis, J. L. Diferenciación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. o.* f. sp. *radicis-lycopersici* y su detección en planta mediante marcadores RAPD. *Bot. San. Veg. Plagas*, 20:919-926.
 22. Cardador-Martínez, A., Castaño-Tostado, E., Loarca-Piña, G. 2002. Antimutagenic activity of natural phenolic compounds in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) against aflatoxinB1. *Food Additives and Contaminants*, 19(1): 62–69.
 23. Céspedes, C. y Alarcón, J. 2011. Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*.
 24. Céspedes, C., Ávila, G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mungica, C. and Salgado-Garciglia, R. 2006. Antifungal and antibacterial activities of mexican tarragon (*Targetes lucida*). *J. Agric. Food Chem.* 54(10), pp. 3521-3527.
 25. Chew, Y.-L., J.-K. Goh, and Y.-Y. Lim. 2009. Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 116:13–18. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2009.01.091. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609001447>

26. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2016. Vecinos Verdes. Colorín, Patol, Zompantle (*Erythrina americana*). Consultado el 16/09/17 <http://www.biodiversidad.gob.mx/Difusion/cienciaCiudadana/urbanos/ficha.php?item=Erythrina%20americana>
27. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2016. Vecinos Verdes. Colorín, Patol, Zompantle (*Erythrina americana*). Consultado el 16/09/17 <http://www.biodiversidad.gob.mx/Difusion/cienciaCiudadana/urbanos/ficha.php?item=Erythrina%20americana>
28. Cueto-Wong, María Cristina; Rivas-Morales, Catalina; Alanís-Guzmán, Ma. Guadalupe; Oranday-Cárdenas, Azucena; Amaya-Guerra, Carlos Abel; Núñez-González, Adriana; Samaniego-Gaxiola, José Alfredo; Cano-Ríos, Pedro. 2010. Antifungal properties of essential oil of mexican oregano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Revista Mexicana de Micología, vol. 31, 2010, pp. 29-35 Sociedad Mexicana de Micología. Xalapa, México.
29. Delgadillo, S.F., Zavaleta-Mejía, E., Osada Kawasoe, S., Arévalo Valenzuela, A., González-Hernández, V., Nieto Angel D., Torres Pacheco I., 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* y su control mediante Tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). Revista Fitotecnia Mexicana 25: 349-354.
30. Deutsch, H. F., M. A. Evenson, P. Drescher, C. Sparwasser, and P. O. Madsen. 1994. Isolation and biological activity of aspidospermine and quebrachamine from an Aspidosperma tree source. J. Pharm. Biomed. Anal. 12:1283–1287. doi:10.1016/0731-7085(94)00066-2. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0731708594000662>
31. Dixon, R. 2001. Natural products and plant disease resistance. Nature. 411, 843-847.
32. Do, Q. D., A. E. Angkawijaya, P. L. Tran-Nguyen, L. H. Huynh, F. E. Soetaredjo, S. Ismadji, and Y.-H. Ju. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. J. Food Drug Anal. 22:296–302. doi:10.1016/J.JFDA.2013.11.001. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949813001348>
33. Dolabela, M. F., M. M. Póvoa, G. C. Brandão, F. D. Rocha, L. F. Soares, R. C. de Paula, and A. B. de Oliveira. 2015. Aspidosperma species as sources of anti-malarials: uleine is the major anti-malarial indole alkaloid from *Aspidosperma parvifolium* (Apocynaceae). Malar. J. 14:498. doi:10.1186/s12936-015-0997-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26655827>
34. Duke, S. O., Cedergreen, N., Velini, E. D., & Belz, R. G. (2006). Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy?. Outlooks on Pest Management, 17(1), 29-33.
35. Dyakov, Y. T. 2007. Overview on parasitism: Chemical degradation of cell covers. Comprehensive and Molecular Phytopathology. Studies in Plant Science. Pages 3-17. Elsevier.
36. Eghdami, A., and F. Sadeghi. 2010. Determination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of *Achillea Millefolium*. Available from: http://iau-saveh.ac.ir/Files/Journal/2012-01-17_02.02.14_9-eghdami.pdf
37. Engelmeier, D. y Hadacek, F. 2006. Antifungal natural products: assays and applications. Elsevier Sci. Ltd. Pp. 423-467.

38. FAO. 2016. Technologies and practices for small agricultural producers (TECA). Food and Agriculture Organization. Consulted <http://teca.fao.org/read/8629>.
39. FAOSTAT. 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database. Consulted on March, 2018. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
40. Fehling-Fraser, T. y Ceccon, E. 2015. Macropropagación de *Erythrina americana* en invernadero: una herramienta potencial para la restauración de bosques tropicales estacionalmente secos. Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 21(1), 5–16. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.04.016
41. Feregrino, Pérez. 2008. Composition and Chemopreventive Effect of Polysaccharides from Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on Azoxymethane-Induced Colon Cancer. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56:8737–8744.
42. Feregrino-Pérez, A.A., Torres-Pacheco, I., Vargas-Hernández, M., Munguía-Fragozo, P., Loarca-Piña, V., Mendoza-Díaz, G.F., Ocampo-Velázquez, S.O., Rico-García, R.V., Guevara-González, E.R.G. 2011. Antioxidant and antimutagenic activities of *Acacia pennatula* pods. J. Sci. Ind. Res. 70, 859–864.
43. Fernández Acero, F., Carbú, M., El-Akhal, M., Garrido, C., González-Rodríguez, V. and Cantoral, J. 2011. Development of proteomics-Based fungicides: New strategies for environmentally friendly control of fungal plant diseases. Int. J. Mol. Sci. 12(1):795-816.
44. Feyereisen R. 1999. Insect P450 Enzymes. Annu Rev. Entomol 44: 507 - 533.
45. Fukumoto, L. R., Mazza, G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chem, 48: 3597-3604.
46. García, C. V. 2004. Introducción a la Microbiología. Segunda edición. Editorial EUNED. Costa Rica. pp. 103-107.
47. García-Mateos, R. y Villegas-Monter, A. 1999. Isolation of alkaloids of *Erythrina* from tissue culture. Phytochemical Analysis 10:12-16.
48. García-Mateos, R., Lucas, B., Zendejas, M., Soto-Hernández, M., Martínez, M. and Sotelo, A. 1996. Variation of total nitrogen, non-protein nitrogen content, types of alkaloids at different stages of development in *Erythrina americana* seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44:2987-2991.
49. García-Mateos, R., M. Soto-Hernández, and H. Vibrans. 2001. *Erythrina americana* miller ("Colorín"; Fabaceae), a versatile resource from Mexico: A review. Econ. Bot. doi:10.1007/BF02866562.
50. García-Mateos, R., Soto-Hernández, M. y Kelly, D. 1998. Alkaloids in six *Erythrina* species endemic from México. Biochemical Systematics and Ecology 26: 545-551.
51. García-Mateos, R., Soto-Hernández, M. y Martínez, M. 2004. Variation in alkaloid type and content during *Erythrina Americana* seed development. Recent advances o research in antinutritional factors in legumes seeds and oils seeds. Publication of the European Association for Animal Production (Toledo, Spain) 110, 57-62.
52. García-Mateos, R., Soto-Hernández, M. y Vibrans, H. 2001. *Erythrina americana* Miller ('Colorín'; Fabaceae), a versatile resource form Mexico. A review. Economy Botany 55(3):391-400.
53. Garín Aguilar, J., Ramírez Luna, E., Soto-Hernández, M., Valencia del Toro, G. and Martínez-Vázquez, M. 2000. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behaviour in rats. Journal of Ethnopharmacology 69:189-196. 1999.

54. Gaspar, L. F. 2013. Estrategias para el manejo de la Resistencia a fungicidas de alto riesgo: Estrobirulinas, Benzimidazoles, Tiofanatos y Triazoles. Agroquímicos Gaspar, Argentina. Consultado en www.engormix.com.
55. Ghosh, S., J. C. Strum, and R. M. Bell. 1997. Lipid biochemistry: functions of glycerolipids and sphingolipids in cellular signaling. *FASEB J.* 11:45–50. doi:10.1096/fasebj.11.1.9034165. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9034165>
56. Gođevac, D., G. Zdunić, K. Šavikin, V. Vajs, and N. Menković. 2008. Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. *Fitoterapia.* 79:185–187. doi:10.1016/J.FITOTE.2007.10.001. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X07002535>
57. González, I., Arias, Y. y Peteira, B. 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*-TOMATE. *Rev. Protección Veg.* Vol. 27 No. 1: 1-7.
58. Gordon, T. R and Martyn, R. D. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology.* Vol. 35:111–128.
59. Guerrero-Rodríguez E., Solís-Gaona S., Hernández-Castillo, F., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V. y Jasso-Cantú, D. 2007. Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourenxia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha; *Alternaria alternata* (Fr.:Fr) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y *Sacc.* y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25(1):48.
60. Gupta, V. K., and M. Ayyachamy. 2012. *Biotechnology of fungal genes.* CRC Press.
61. Hansen, C. W., and J. Lynch. 1998. Response to Phosphorus Availability during Vegetative and Reproductive Growth of *Chrysanthemum*: II. Biomass and Phosphorus Dynamics. *J. Am. Soc. Hortic. Sci. jashs.* 123:223–229. doi:10.21273/JASHS.123.2.223. Available from: <https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/123/2/article-p223.xml>
62. Hargreaves, R. T., Johnson, R. D., Millington, D. S., Mondal, M. H., Breavers, W., Becker, L., Young, C. and Rinehart, K. L. Jr. 1974. Alkaloids of American species of *Erythrina*. *Lloydia* 37:569-580.
63. Hastings, R. B. 1990. Medicinal legumes of Mexico: Fabaceae, Papilionoideae, Part one. *Economic Botany* 44(3), 336-348.
64. Hernández-Castillo, F. D., Castillo-Reyes, F., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R. y Aguilar-González, C. 2010. *Lippia graveolens* and *Carya illinoensis* organic extracts and there *in vitro* effect against *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5 (3):380-384. ISSN 1557-4989.
65. Hewitt, G. 2000. New modes of action of fungicides. *Pesticides Outlook.* 11, 28-32.
66. Huxley. A. 1992. *The New RHS Dictionary of Gardening.* MacMillan Press 1992 ISBN 0-333-47494-5. Excellent and very comprehensive, though it contains a number of silly mistakes. Readable yet also very detailed.
67. Ibarra Estrada, E., M. Pacheco Sánchez, R. G. Mateos, R. San, M. Chávez, G. R. Valverde, and R. M. Soto Hernández. 2011. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ALCALOIDES DE *Erythrina americana* Miller ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Erythrina americana* Miller ALKALOIDS. *Rev. Mex. Fitopatol.* 34:241–246.
68. Ibarra Estrada, E., R. T. Morales, M. Soto-Hernández, M. Martínez Vázquez, R. García-Mateos, R. San, and M. -Chávez. 2009. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA in vitro DE ERISOVINA In vitro ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ERYSOVINE. *Nota Científica Rev. Fitotec. Mex.* 32:327–330.

69. Ibarra-Estrada, E., Pacheco-Sánchez, M., García-Mateos, R., San Miguel-Chávez, R., Ramírez-Valverde, G., y Soto-Hernández, R. M. 2011. Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Revista fitotecnia mexicana, 34(4), 241-246.
70. Ibarra-Estrada, E., Téllez-Morales, R., Soto-Hernández, M., Martínez-Vázquez, M., García-Mateos y Miguel-Chávez, R.S. 2009. Actividad antimicótica *in vitro* de erisovina. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 32 (4): 327-330.
71. Ingham, J.L. 1991. Isoflavonoids: phytoalexins from the fungus-inoculated leaflets of *Erythrina* species. Biochemical Systematics and Ecology 19:497-506.
72. Isono, N., and M. Mori. 1995. Total Synthesis of (-)-Cephalotaxine. J. Org. Chem. 60:115–119. doi:10.1021/jo00106a023. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo00106a023>
73. Izhaki, I. 2002. Emodin- α secondary metabolites with multiple ecological functions in higher plants-Research review. New Physiologist- 155, 205-217.
74. Jasso de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, D., Angulo-Sánchez, J.L., Rodríguez-García, R., Villarreal Quintanilla, J.A. y Lira-Saldívar, R.H. 2007. Industrial Crops and Products 25, 111-116.
75. Juárez-Becerra G. P. Sosa-Morales, M. E. y López-Malo, A. 2010. Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 4-2: 14-23.
76. Krebs, H. A., D. Wiggins, M. Stubbs, A. Sols, and F. Bedoya. 1983. Studies on the mechanism of the antifungal action of benzoate. Biochem. J. 214:657–63. doi:10.1042/bj2140657. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6226283>
77. Kuete, V., and T. Efferth. 2010. Cameroonian Medicinal Plants: Pharmacology and Derived Natural Products. Front. Pharmacol. 1:123. doi:10.3389/fphar.2010.00123. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2010.00123/abstract>
78. Lira-Saldívar, R. H. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora (*Larrea tridentata* D. C., Coville). Revista Mexicana de Fitopatología 21:214-221.
79. Lira-Saldívar, R. H., Balvantín, G. G. F., Hernández, C. F. D., Gamboa, A. R., Jasso de Rodríguez, D. y Jiménez, D. F. 2003. Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex D.C.) Coville extracts from two Mexican deserts against *Pythium* sp. Pringsh. Mexican Journal of Phytopathology, Vol. 21, No.2, pp. (97-101), ISSN 0185-3309.
80. Lira-Saldívar, R. H., Hernández-Suárez, M., & Hernández-Castillo, F. D. 2006. Activity of *Larrea tridentata* (DC) Coville L. extracts and chitosan against fungi that affect horticultural crops. Revista Chapingo Serie Horticultura, 12(2), 211-216.
81. Llera, M. y Meléndez, F. 1989. Evaluación de dos especies forestales para cercos vivos en Tabasco. Memorias. Simposio Agroforestal en México. Sistemas y Métodos de Uso Múltiple del Suelo. Vol. I. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León, Linares, Nuevo León, México.
82. López-Malo, A., S. Maris Alzamora, and E. Palou. 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. Int. J. Food Microbiol. 99:119–128. doi:10.1016/J.IJFOODMICRO.2004.08.010. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504004064>

83. Luo, M., Jiang, L. K. y Zou, G. L. 2002. The mechanism of loss of germination ability of *A. flavus* spore with citral. *Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao* 18, 227–233; Chem. Abs. 137, 60144.
84. Martínez P., H. Y. y Hernández D., S. 2013. El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México. Problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*. Vol. 31 No. 2.
85. Meareg, G. A. y Keller, N. P. 2012. Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. Elsevier. *Fungal Genetics and Biology*. 66: 11-18.
86. Moore, R. J., ed. 2013. *Handbook of Pain and Palliative Care*. Springer New York, New York, NY. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-1651-8>
87. Moreno L. S. y González S. L. 2011. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica* 32:193-205.
88. Murray, P. R., E. F. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover y R. H. Tenover. 1995. *Manual of Clinical Microbiology* 6. ASM, Washington DC, USA. 1005 p.
89. Musálem, M. A. 1992. *Erythrina* in México: occurrence, use and research. International Conference on *Erythrina* in the New and Old World. October 19-23. Centro agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
90. Muthukrishnan, S., Palanisamy, S., Santhanam, I. and Kaveriyappan, G. 2014. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Erythrina variegata*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 3, Issue 6, 680-690.
91. Nagaraja, T. S., Mahmood, R., Krishna, V. and Maruthi T, E. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of *Erythrina mysorensis* Gamb. *International Journal of Drug Development & Research*. Vol. 3 Issue 2.
92. Naghiloo, S., A. Movafeghi, A. Delazar, H. Nazemiyeh, S. Asnaashari, and M. R. Dadpour. 2012. Ontogenetic Variation of Total Phenolics and Antioxidant Activity in Roots, Leaves and Flowers of *Astragalus compactus* Lam. (Fabaceae). *Bioimpacts*. 2:105–9. doi:10.5681/bi.2012.015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23678448>
93. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Oleamide, CID=5283387, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleamide> (accessed on June 3, 2019).
94. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. (113C) Tetracosanoic acid, CID=16213616, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/113C_tetracosanoic-acid (accessed on June 3, 2019).
95. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. gamma-Tocopherol, CID=92729, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/gamma-Tocopherol> (accessed on June 3, 2019)
96. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. CID=521648, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eicosanoic-acid_-trimethylsilyl-ester (accessed on June 3, 2019)
97. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. CID=1742129, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Tocopherol> (accessed on June 3, 2019).

98. Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R. y Vázquez-Montoya, L. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*. Vol 8, Número 3. Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuente, Sinaloa. Pp. 17-29.
99. Neill, D. A. 1993. The genus *Erythrina*: taxonomy, distribution and ecological differentiation. Pages 15-27 in S. B. Westley and M. H. Powell, eds., *Erythrina in the New and Old Worlds*. Nitrogen Fixing Tree Association, Paia, Hawaii.
100. Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M., Zhang, H.Y. 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 4669-4674.
101. Nkengfack, A. E., Vouffo, T. W., Fomum, Z. T., Meyer, M., Bergendorff, O. and Sterner, O. 1994. Prenylated isoflavanone from the roots of *Erythrina sigmoidea*. *Phytochemistry*. 36:1047–51.
102. Ogutu, A., Lilechi, D. B., Mutai, C. and Bii, C. 2012. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Phytolacca dodecandra*, *Cucumis aculeatus* and *Erythrina excelsa*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(2):692-704.
103. Oliva-Hernández, J., & López-Herrera, M. A. (2016). El moté (*Erythrina americana*) una leguminosa con amplias posibilidades de uso en la alimentación de ovinos. *Agroregión*, 9(79), 18-20.
104. Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A. Loarca-Piña, G. 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 935–942.
105. Palomares-Padres, R. 2011. Biosistema, una alternativa viable en producción. *Meister Media Worldwide. Hortalizas*.
106. PASTER, N., M. MENASHEROV, U. RAVID, and B. JUVEN. 1995. Antifungal Activity of Oregano and Thyme Essential Oils Applied as Fumigants Against Fungi Attacking Stored Grain. *J. Food Prot.* 58:81–85. doi:10.4315/0362-028X-58.1.81. Available from: <http://jfoodprotection.org/doi/abs/10.4315/0362-028X-58.1.81>
107. Pelicice, F., Dietrich, S., Bragga, M. 2000. Phytoalexin response of fifteen Brazilian soybeans cultivars. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 12, 1, 45-53.
108. Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S. E. y Martínez-Carrillo, J. L. 2017. Extractos de *Larrea tridentata* como una estrategia ecológica contra *Fusarium oxysporum radialis-lycopersici* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*.
109. Peñuelas-Rubio, O., M. Arellano-Gil, A. A. Verdugo-Fuentes, L. A. Chaparro-Encinas, S. E. Hernández-Rodríguez, J. L. Martínez-Carrillo, I. D. C. Vargas-Arispuro, O. Peñuelas-Rubio, M. Arellano-Gil, A. A. Verdugo-Fuentes, L. A. Chaparro-Encinas, S. E. Hernández-Rodríguez, J. L. Martínez-Carrillo, and I. del C. Vargas-Arispuro. 2017. Extractos de *Larrea tridentata* como una estrategia ecológica contra *Fusarium oxysporum radialis-lycopersici* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. *Rev. Mex. Fitopatol. Mex. J. Phytopathol.* 35:360–376. doi:10.18781/R.MEX.FIT.1703-3. Available from: <http://www.rmf.smf.org.mx/ojs/index.php/RMF/article/view/70>
110. Pérez-Jiménez, J., S. Arranz, M. Tabernero, M. E. Díaz- Rubio, J. Serrano, I. Goñi, and F. Saura-Calixto. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Res. Int.* 41:274–285. doi:10.1016/J.FOODRES.2007.12.004.

- Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996907002062>
111. Pérez-Moreno L., Ovalde-Portugal, V., Salinas-González, J.G., Sánchez-Pale, J.R. y Entwistle, A. R. 1998. Current known distribution of white rot *Sclerotium cepivorum* Berk. in México. In: Entwistle A.R., Pérez-Moreno L. (eds.). Proceedings of the 6th International Workshop on Allium White Rot. Irapuato Guanajuato 1998, 6-9.
 112. Peyrat-Maillard, M. N., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 2003. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80:1007. doi:10.1007/s11746-003-0812-z. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1007/s11746-003-0812-z>
 113. Pillmoor, J.B., Wright, K. y Terr, S.A. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pestic. Sci.* 39: 131 - 140.
 114. Rahuman, A. A., G. Gopalakrishnan, B. S. Ghose, S. Arumugam, and B. Himalayan. 2000. Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae. *Fitoterapia.* 71:553–555. doi:10.1016/S0367-326X(00)00164-7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X00001647>
 115. Ramírez-Orta, M.G. y Camacho-Morfin, F. 1987. Tratamientos de semillas latentes de plantas de importancia económica. *Biología* 16:1-4. México.
 116. Randhir, R., Y.-T. Lin, and K. Shetty. 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Available from: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/31208317/Randhirs.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1553603686&Signature=JFclHPv54kYrtLcf4f%2F4pd1%2F5rU%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DPhenolics_their_antioxidant_and_antimicr.pdf
 117. Ribera, A.E. y Zúñiga, G. 2012. Induced plant secondary metabolites for phytopathogenic fungi control: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12(4), 893-911.
 118. Ríos, J., Recio, M., Villar, A., 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 23(2-3): 127-149.
 119. Ríos-Osorio, O. Chávez-Servia, J. L. y Carrillo-Rodríguez, J. C. 2014. Producción tradicional y diversidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) nativo: un estudio de caso en Tehuantepec-Juchitán, México. *SciELO. Agric. Soc. Desarro.* Vol. 11, no. 1.
 120. Rocha-Vilela, G., de Almeida, G. S., D'Arce, M. A. B. R., Moraes, M. H. D., Brito, J. O., da Silva, M. F. G. F., Silva, S. C., Piedade, S. M. S., Calori-Domingues, M. A., and da Gloria, E. M. 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1, 8- cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research* 45:108-111.
 121. Rodríguez, D. A. y Montilla, J. O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 63: 46-50.
 122. Rukachaisirikul, T., Innok, P., Aroonrerk, N., Boonamnuaylap, W., Limrangsun, S., Boonyon, C., Woonjina, U. and Suksamrarn, A. 2007. Antibacterial

- Pterocarpanes from *Erythrina subumbrans*. J. Ethnopharmacol. doi:10.1016/j.jep.2006.09.022.
123. Saavedra-Marín, M. y Martínez y Díaz de Salas, M. 2007. Mapas de distribución de la familia Fabaceae en la zona conurbada de Querétaro. Investigación-Difusión. Fac. de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).
 124. Salim, A. A., M. J. Garson, and D. J. Craik. 2004. New Indole Alkaloids from the Bark of *Alstonia scholaris*. J. Nat. Prod. 67:1591–1594. doi:10.1021/np0498612. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15387668>
 125. San Miguel-Chávez, R., M. Soto-Hernández, T. Terrazas, and G. Kite. 2006. Morphology and alkaloidal profile of the seedlings of *Erythrina americana* Mill. and *E. coralloides* A.DC. Feddes Repert. doi:10.1002/fedr.200511099
 126. Sánchez-Herrera, S., ; R M Soto-Hernández, ; G Kite, and ; M R García-Mateos. 2001. IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES EN LAS INFLORESCENCIAS DE *Erythrina americana* Miller. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 7:37–48.
 127. Sánchez-Herrera, S., Soto-Hernández, R. M. and García-Mateos, M. R. 2001. Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythina americana* Miller. Chapingo Serie Horticultura 7(1):37-48.
 128. Sánchez-Herrera, S., Soto-Hernández, R. M. and García-Mateos, M. R. 2001. Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythina americana* Miller. Chapingo Serie Horticultura 7(1):37-48.
 129. Sánchez-Herrera, S., Soto-Hernández, R. M. and García-Mateos, M. R. 2001. Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythina americana* Miller. Chapingo Serie Horticultura 7(1):37-48.
 130. Sánchez-Vélez, A. 1992. *Erythrina* sp. en el Alto Balsas Poblano. División de Ciencias Forestales. Folleto, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.
 131. Santos, M., Diáñez, F., de Cara, M. and Tello, J. C. 2008. Possibilities of the use of vinasses in the control of Fungi phytopathogens. Biosource Technol. 99(18):9040-3.
 132. Saravanakumar, A., Venkateshwaran, K., Vanitha, J., Ganesh, M., Vasudevan, M. and Sivakumar, T. 2009. Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid contents of *Thespesia populnea* flower extracts. Park. J. Pharm. Sci., Vol. 22, No. 3, July 2009, pp.282-286.
 133. Schuster, E., N. Dunn-Coleman, J. Frisvad, and P. van Dijck. 2002. On the safety of *Aspergillus niger* - a review. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59:426–435. doi:10.1007/s00253-002-1032-6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-002-1032-6>
 134. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Estadísticas de Producción para el Año Agrícola. 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
 135. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2017. Boletín mensual de maíz grano. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.siap.gob.mx/index. Consultado el 17/10/17.
 136. Singh, G., W Chen, D., Rubiales, K. Moore, Y. R., Sharma y Gan. 2007. Diseases and their management. In: Chickpea Breeding and Management. S S Yadav, R J Redden, W Chen, B Sharma (eds). CABI International. pp:497-519.

137. Singleton, V.I., Orthofer, R., Lamuela R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*, 299: 152-178.
138. Smith, I. M., Dunez, J., Lelliot, R. A., Phillips, D. H. y Archer, S. A. 1998. *Manual de Enfermedades de las Plantas*. GRAFO. Bilbao, España. 667 Pp.
139. Sotelo, A., Soto, M., Lucas, B. and Giral, F. 1993. Comparative studies of the alkaloidal composition of two Mexican *Erythrina* species and nutritive value of the detoxified seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41:2340-2343.
140. Sultana, B., F. Anwar, M. Ashraf, B. Sultana, F. Anwar, and M. Ashraf. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*. 14:2167–2180. doi:10.3390/molecules14062167. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/14/6/2167>
141. Telikepalli, H., Gollapudi, S. R., Keshavarz-Shokri, A., Velazquez, L., Sandmann, R. A., Veliz, E. A., Rao, K. V. J., Madhavi, A. S., and Mitscher, L. A. 1990. Isoflavonoids and a cinnamyl phenol from root extracts of *Erythrina variegata*. *Phytochemistry*, Vol.29, No.6, pp. 2005-2007, ISSN 0031-9422
142. ten Have, R., and P. J. M. Teunissen. 2001. Oxidative Mechanisms Involved in Lignin Degradation by White-Rot Fungi. *Chem. Rev.* 101:3397–3414. doi:10.1021/cr000115l. Available from: <https://doi.org/10.1021/cr000115l>
143. Thompson, D. P. 1992. Inhibition of mycelial growth of mycotoxigenic fungi by phenolic antioxidants. *Mycologia* 84:791-793.
144. Tournu, H., Serneels, J. and Van Dijck, P. 2005. Fungal pathogens research: novel and improved molecular approaches for the discovery of antifungal drug targets. *Curr. Drug Targets*. 6(8):909-22.
145. Trigos, A. Ramirez, K y Salinas A. 2008. Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de Micología*. 28:125-129.
146. Ulacio-Osorio, D., E. Zavaleta-Mejía, A. Martínez-Garza, and A. Pedroza-Sandoval. 2006. STRATEGIES FOR MANAGEMENT OF SCLEROTIUM CEPIVORUM BERK. IN GARLIC. *J. Plant Pathol.* 88:253–261. doi:10.2307/41998329. Available from: <https://www.jstor.org/stable/41998329>
147. Ulacio-Osorio, D., Zavaleta-Mejía, E., Martínez-Garza, A. and Pedroza-Sandoval, A. 2006. Strategies for management of *Sclerotium cepivorum* Berk in Garlic. *Journal of Plant Pathology* 88 (3), 253-261.
148. Van Dreische, R. E., Nunn, C., Kreke, N., Goldstein, B., Benson, J. 2003. Laboratory and field host preferences of introduced *Cotesia* spp parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) between native and invasive *Pieris* Butterflies. *Biol Control* 28: 214 - 221.
149. Vardon, P, McLaughlin, C. y Nardinelli, C. 2003. Potential Economic Costs of Mycotoxins in the United States. Council for Agricultural Science and Technology Task Force, Report No. 139.
150. Vargas-Hernández, M., P. V. Munguía-Fragozo, A. Cruz-Hernández, B. Z. Guerrero, M. M. Gonzalez-Chavira, A. A. Feregrino-Pérez, S. O. Mendoza-Díaz, G. Loarca-Piña, I. Torres-Pacheco, M. Hernández-Salazar, and R. G. Guevara-Gonzalez. 2014. Bioactivity and gene expression studies of an arbustive Mexican specie *Acaciella angustissima* (Timbe). *Ind. Crops Prod.* 52:649–655.

- doi:10.1016/J.INDCROP.2013.11.018. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013006444>
151. Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, et al., HMDB 4.0 — The Human Metabolome Database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018. Jan 4;46(D1): D608-17. 29140435.
152. Wissuwa, M. 2003. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. *Plant Physiol.* 133:1947–58. doi:10.1104/pp.103.029306. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14605228>
153. WU, H.-S., Y. WANG, C.-Y. ZHANG, W. E. I. BAO, N. LING, D.-Y. LIU, and Q.-R. SHEN. 2009. Growth of in vitro *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in chemically defined media amended with gallic acid. *Biol. Res.* 42:297–304. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602009000300004&nrm=iso
154. Yeh, S. Y. 1981. Analgesic activity and toxicity of oripavine and dihydrothebaine in the mouse and rat. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 254:223–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6121539>
155. Yenesew, A., Derese, S., Midiwo, J. O., Bii, C. C., Heydenreich, M. and Peter M. G. 2005. Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. *Fitoterapia* 76 469-472.

X. Apéndice.

Tabla 6. Compuestos orgánicos de pétalo de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
1	Acetamida, 2, 2, 2 - trifluoro-N-(trimethylsilyl)-	2,2,2-trifluoro-N-(trimethylsilyl) acetamida	46.2	99	CAS 55982-15-5	2.364	185
2	Trisiloxane, octamethyl	Octamethyltrisiloxane Siilinae, dimethylbis(trimethyl-siloxo)-	30	103	CAS 107-51-7	2.603	236
3	Acetamida, N1 N -diethyl	N, N-Diethylacetamida CH3CON (C2H5)2	7.56	47	CAS 685916	2.776	115
4	Silanol, trimethyl-phosphate (3:1)	Tris(trimethylsilyl) phosphate Phosphoric acid, tris (trimethylsilyl) ester	89.2	76	CAS 10497059	5.14	314
5	Butanedioic acid, bis (trimethylsilyl) ester	Succinic acid (2TMS) Succinic acid di(trimethylsilyl) ester	88.6	99	CAS 40309577	5.519	262
6	2-Butenedioic (E)-,bis (trimethylsilyl)ester	Fumaric acid, bis(trimethylsilyl) ester Bis(trimethylsilyl) fumarate Fumaric acid, bis- TMS ester	88.2	72	CAS: 17962-03-7	5.942	260
7	Cystathionine, bis (triemethylsilyl) ester	Cystathionine, di- TMS Trimethylsilyl 2-amino-4-((2-amino-3-oxo-3- [(trimethylsilyl)oxy]propyl)sulfanyl)butanoate	26.9	215	CAS:73090-79-6	6.56	366
8	Hexanoic acid, 3-trimethylsilyloxy, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl 3-((trimethylsilyl)oxy)hexanoate 3-Trimethylsilyloxy(trimethylsilyl)caproate 3-Hydroxycaproic acid, bis- TMS	13.8	101	CAS: 136788-82-4	7.015	276
9	2-Isopropyl-3-ketobutyrate, bis(O-trimethylsilyl)-	Trimethylsilyl (2Z)-2-isopropyl-3- [(trimethylsilyl)oxy]-2-buteonate	53.1	161	NIST:79700	7.677	288
10	l-Galactopyranose, 6-deoxy- 1,2- bis-O- (trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	((2,4-Dimethyl-6-((trimethylsilyl)oxy)tetrahydro-4H- [1,3,2]dioxaborolo [4,5-c]pyran-7- y)oxy)trimethylsilane	8.64	163	CAS: 56196-83-9	8.132	332
11	Butanedioic acid, [(trimethylsilyl)oxy]- bis(trimethylsilyl) ester	Tris(trimethylsilyl)malic acid Bis(trimethylsilyl) 2-[(trimethylsilyl)oxy]succinate Bis(trimethylsilyl)O-(trimethylsilyl)-malate	91.2	71	CAS:38166-11-9	8.371	350
12	D-Erythro-Pentonic acid, 2-deoxy-3,5-bis-O- (trimethylsilyl)-, γ-lactone	D-erythro- Pentonic acid, 2-deoxy- 3,5-bis (trimethylsilyl)-, γ-lactone	32.3	167	CAS:10589-33-0	8.685	276
13	L-Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester Pyroglutamic acid, bis (trimethylsilyl)-	69.2	83	CAS:40274-77-2	8.924	273
14	1,8-Dimethyl-9-thioureido-3,6- diazahomoadamantane	SIN SINONIMOS	38.7	195	NIST:216291	9.108	254
15	Xylulose tetrakis(trimethylsilyl)-	2,3,4,5-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentose 3-Trimethylsilyloxy-3 methyl- bis(trimethylsilyl)glutarate	39.5	127	NIST:141494	10.149	438
16	Pentanedioic acid, 3-methyl-3[(trimethylsilyl)oxy]- bis (trimethylsilyl) ester	beta-Hydroxy-beta-methylglutaric acid (3TMS) 3-Trimethylsilyloxy-3 methyl- bis(trimethylsilyl)glutarate	13.9	56	CAS: 55590	10.355	378
17	Xylonic acid, 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, δ-lactone, D-	Xylonic acid, 1,5-lactone, tris-TMS, D-	11.6	84	CAS: 32384-59-1	10.875	364
18	α-D-Galactopyranose, 1,2,3-tris-O-(trimethylsilyl)- cyclic methylboronate	Trimethyl((2-methyl-6,7- bis[(trimethylsilyl)oxy]hexahydroprano[3,2- d]dioxaborinin-8-y)oxy)silane	9.42	228	CAS: 56196-95-3	11.255	420
19	3,4,5-Trihydroxypentanoic acid, tetrakis(trimethylsilyl)-	Trimethylsilyl 5-deoxy-2,3,4-tris-O- O(trimethylsilyl)pentonate	52.7	87	NIST: 99898	11.428	438
20	β-L-Galactopyranose, 6-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O- (trimethylsilyl)-	Galactopyranose, 6-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O- (trimethylsilyl)-β-L- 6-Deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O- (trimethylsilyl)hexopyranose	14.6	84	CAS:32727-31-4	11.71	452
21	2-Deoxyribose O-(O) tris(trimethylsilyl)-	2-Deoxy-2,4,5-tris-O-(trimethylsilyl)pentose	64.7	116	CAS: 32649-76-0	12.024	350

Tabla 6. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
21	2-Deoxy ribose O,O',O"-tris(trimethylsilyl)-	2-Deoxy-3,4,5-tris-O-(trimethylsilyl)pentose	64.7	116	CAS: 33648-76-9	12.024	350
22	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-,cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	17	236	CAS: 54477-01-9	12.263	331
23	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- (((trimethylsilyloxy)methyl)ethyl (9E,12E,15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	40	189	CAS: 55521-23-8	12.577	496
24	Pentanoic acid, 3-methyl-3,5-bis(trimethylsilyloxy)-,methyl ester	Methyl 3- methyl-3,5- bis(trimethylsilyloxy)pentanoate	4.83	124	CAS: 56051	12.827	306
25	Dihydroxyacetone dimer, tetra(trimethylsilyl)-	[[2,5-Bis(trimethylsilyloxy)-5- ((trimethylsilyloxy)methyl)-1,4-dioxan-2- yl)methoxy](trimethyl)silane	15.8	85	CAS: 28527-65-3	13.065	468
26	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D-	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O- (trimethylsilyl)hexofuranoside	8.33	130	CAS:6736-96-5	13.13	482
27	α -D-Galactopyranose, 1,2,3-tris-O-(trimethylsilyl)-,cyclic methylboronate	Trimethyl((2-methyl-6,7- bis(trimethylsilyloxy)hexahydropyrano[3,2- d][1,3,2]dioxaborinin-8-yl)oxy)silane	11.7	228	CAS: 56196-95-3	13.347	420
28	Dihydroxyacetone dimer, tetra(trimethylsilyl)-	[[2,5-Bis(trimethylsilyloxy)-5- ((trimethylsilyloxy)methyl)-1,4-dioxan-2- yl)methoxy](trimethyl)silane	32.7	85	CAS: 28527-65-3	13.445	468
29	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	9.27	174	NIST: 380126	13.553	540
30	D- Psicofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	9.46	202	NIST:380128	13.662	540
31	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D-	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O- (trimethylsilyl)hexofuranoside	28.7	130	CAS: 6736-96-5	13.9	482
32	D-(-)-Fructofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	33.4	208	NIST: 380166	14.106	540
33	β -DL-Arabinopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentopyranose	8.47	142	CAS:56271-64-8	14.496	438
34	β -DL-Lyxopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4-Tetrakis-O- (trimethylsilyl)-pentopyranose	7.11	141	CAS: 56271-66-0	14.626	438
35	D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentopyranose	4.9	95	CAS: 55555-45-8	14.67	438
36	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D-	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O- (trimethylsilyl)hexofuranoside	19.5	130	CAS: 6736-96-5	14.735	482
37	D- Psicofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	11.3	202	NIST: 380128	15.049	540
38	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4,5-Pentakis-O-(trimethylsilyl)ribitol Ribitol, 5TMS Ribitol, (pentakis-TMS)-	12.6	185	CAS: 32381-53-6	15.331	512
39	β -D-(+)-Mannopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	11.8	200	NIST: 380130	15.57	540
40	β -D-(+)-Mannopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	8.29	200	NIST: 380130	15.602	540

Tabla 6. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
41	D-Xylopiranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentopyranose	5.46	95	CAS: 55555-45-8	15.711	438
42	D-Galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Galactose, pentakis-O-(trimethylsilyl)- Galactose, penta-TMS-ether	6	111	CAS: 6736-94-3	15.743	540
43	α -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5ethylhexahydro-2,4,6,triexo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl) hexopyrasiduronate	30.2	340	CAS: 55556-81-5	16.123	648
44	Myo-Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-,myo-Trimethyl((2,3,4,5,6-pentakis((trimethylsilyloxy)cyclohexyloxy)silane myo-inositol (6TMS))	31	99	CAS: 2582-79-8	16.578	612
45	D-Xylopiranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,5-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentopyranose	7.45	121	CAS:56271-68-2	16.752	438
46	β -D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Glucopyranoside, trimethylsilyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, β -D-1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-Glucopyranose β -D-Glucopyranose, TMS	9.07	198	CAS: 2775-90-8	16.99	540
47	β -D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Glucopyranoside, trimethylsilyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, β -D-1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-Glucopyranose β -D-Glucopyranose, TMS	12.3	198	CAS:2775-90-8	17.033	540
48	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate Hexadecanoic acid TMS	64.7	231	CAS: 55520-89-3	17.445	328
49	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate Hexadecanoic acid TMS	95.9	157	CAS: 55520-89-3	17.521	328
50	Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	Methyl 14-(2-octylcyclopropyl)tetradecanoate	13.9	141	CAS:52355-42-7	17.868	394
51	Tetradecane, 2,6,10-trimethyl-	2,6,10-Trimethyltetradecane	7.87	112	CAS: 14905-56-7	18.215	240
52	D-Allofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	12.4	195	NIST: 380204	18.313	540
53	Myo-Inositol, 1, 2,3 4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-,myo-Trimethyl((2,3,4,5,6-pentakis((trimethylsilyloxy)cyclohexyloxy)silane myo-inositol (6TMS))	47	99	CAS: 2582-79-8	18.627	612
54	Estra- 1,3,5(10)-trien-17 β -ol	Estra-1,3,5(10)-trien-17-ol, (17 β)-Estradiol, 3-deoxy-1,3,5(10)-Estratriene-17 β -ol	17.4	168	CAS: 2529-64-8	18.768	256
55	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-[[trimethylsilyloxy]-1-[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)	2-[[trimethylsilyloxy]-1-[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	35.7	189	CAS:55521-23-8	18.942	496
56	[1,1'Bicyclorpropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-,methyl ester	NO SINONIMOS	42.8	155	CAS:56687-68-4	19.223	322
57	Malonic acid, 2-formamido-2-[4-(a-hydroxy-3-methyl-2-butenyl)indol-3-yl] methyl-,dimethyl ester	Dimethyl 2-(formylamino)-2-((4-((2E)-4-hydroxy-3-methyl-2-butenyl)-1H-indol-3-yl)methyl)malonate	13.4	318	NIST: 195857	19.397	388
58	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[[trimethylsilyloxy]hexahidropirano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	24.1	236	CAS: 54477-01-9	19.57	331
59	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester	Linoleic acid trimethylsilyl ester cis-9, cis-12-Octadecadienoic acid, trimethylsilyl ester	90.5	122	CAS:56259-07-5	19.744	352
60	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[[trimethylsilyloxy]hexahidropirano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	31.7	236	CAS: 54477-01-9	19.917	331
61	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[[trimethylsilyloxy]hexahidropirano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	19.5	236	CAS: 54477-01-9	20.091	331
62	Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Stearic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl ester of octadecanoic acid Trimethylsilyl stearate	94.2	211	CAS: 18748-91-9	20.123	356
63		N-(6-Methoxy-2-methyl-8-					

Tabla 6. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
63	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	43.1	236	CAS: 54477-01-9	20.156	331
64	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	30.7	236	CAS: 54477-01-9	20.752	331
65	N-[4-(4-Chlorophenyl)isothiazol-5-yl]-1-methylpiperidin-2-imine	4-(4-Chlorophenyl)-N-[(2E)-1-methylpiperidin-2-imine	14.6	237	NIST:287089	20.882	305
66	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	24.1	189	CAS: 55521-23-8	20.926	496
67	Estra- 1,3,5(10)-trien-17 β -ol	Estra-1,3,5(10)-trien-17-ol, (17 β)- Estradiol, 3-deoxy- 1,3,5(10)-Estratriene-17 β -ol	27.9	168	CAS: 2529-64-8	21.099	256
68	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	53.8	189	CAS: 55521-23-8	21.446	496
69	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	82.8	124	CAS: 301-02-0	21.479	281
70	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	68.3	124	CAS: 301-02-0	21.544	281
71	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	61.9	124	CAS: 301-02-0	21.62	281
72	13-Docosenamide, (Z)-	Erucylmide Erucyl amide (Z)-13-Docosenamide	27.9	217	CAS: 112-84-5	21.793	337
73	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	80	236	CAS: 54477-01-9	21.858	331
74	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	56.6	236	CAS: 54477-01-9	21.901	331
75	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	34.1	189	CAS: 55521-23-8	22.032	496
76	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	37.4	189	CAS: 55521-23-8	22.14	496
77	[1-(3,3-Dimethyloxiran-2-ylmethyl)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl]trimethylsilane	((2E)-1-[[3,3-Dimethyl-2-oxiranyl]methyl]-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)trimethylsilane	26.1	177	NIST: 192030	22.248	294
78	15-Isopropenyl-3-(trimethylsilyloxy)cyclopentadecan-2-one	NO SINONIMOS	49.6	281	NIST: 191288	22.346	338
79	Eicosanoic acid, trimethylsilyl ester	Arachidic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl icosanoate Eicosanoic acid, TMS ester	66.8	64	CAS: 55530-70-6	22.487	384
80	Oleic acid, eicosyl ester	9-Octadecenoic acid (Z)-, eicosyl ester Icosyl (9E)-9-octadecenoate	35.3	388	CAS: 22393-88-0	22.66	562
81	4-Acetyloxymino-6,6-dimethyl-3-methylsulfanyl-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[c]thiophene-1-carboxylic acid methyl ester	NO SINONIMOS	15.3	256	NIST:301457	22.91	341
82	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5-epoxy-6-methoxy-17-methyl-, (5 α)-	Oripavine 6,7,8,14-Tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17-methyl-morphinan-3-ol	22.5	229	CAS: 467-04-9	22.975	297
83	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5-epoxy-6-methoxy-17-methyl-, (5 α)-	Oripavine 6,7,8,14-Tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17-methyl-morphinan-3-ol	26	232	CAS:2859-16-7	23.116	313
84	Octadecane- 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	3-Ethyl-5-(2'-ethylbutyl)octadecane 3-Ethyl-5-(2-ethylbutyl)octadecane	9.5	317	CAS: 55282-12-7	23.257	366

Tabla 6. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
85	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2- d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	13	236	CAS:54477-01-9	23.636	331
86	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	17.4	189	CAS: 55521-23-8	23.81	496
87	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	50.9	189	CAS: 55521-23-8	24.124	496
88	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	45.6	124	CAS:301-02-0	24.504	281
89	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	17.9	289	NIST: 380084	24.71	918
90	[1,1'-Bicyclorpropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl- methyl ester	NO SINONIMOS	35	155	CAS: 56687-68-4	24.926	322
91	Hexadecanoic acid, 2, 3- bis(trimethylsilyloxy)propyl ester	1-Monopalmitin trimethylsilyl ester 1-Monopalmitoylglycerol trimethylsilyl ether	98	164	CAS: 1188-74-5	25.056	474
92	Hexadecanoic acid, 2, 3- bis(trimethylsilyloxy)propyl ester	1-Monopalmitin trimethylsilyl ester 1-Monopalmitoylglycerol trimethylsilyl ether	95.8	164	CAS: 1188-74-5	25.1	474
93	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	22.8	289	NIST: 380084	25.132	918
94	2,4-Imidazolidinedione, 5-[3,4-bis [[trimethylsilyloxy]phenyl]-3-methyl-5-phenyl-1- (trimethylsilyl)-	5-(3,4-Bis[[trismethylsilyloxy]-1,5-cyclohexadien-1- yl]3-methyl-5-phenyl-1-(trimethylsilyl)-2,4- imidazolidinedione	40.8	376	CAS: 55517-85-6	25.273	516
95	β -N-Acetylneuraminic acid, methyl ester-2-methyl- 7,9-methyl boronate-3,8-di (trimethylsilyl)-	Dimethyl 5-(acetilamino)-3,5-dideoxy-6-(2-methyl- 5-[[trimethylsilyloxy]-1,3,2-dioxaborinan-4-yl)-4-O- (trimethylsilyl)hex-2-olopyranosidonate	10.4	292	NIST: 25317	25.512	505
96	Docosanoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl docosanoate Behenic acid, trimethylsilyl ester Docosanoic acid, TMS ester	62.6	140	CAS: 74367-36-5	25.826	412
97	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	12.6	289	NIST: 380084	26	918
98	β -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5- ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1- dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-,methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1- dimethylpropyl methyl 2,3,4- tris-O- (trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	25.6	340	CAS: 55556-80-4	26.141	648
99	α -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5- ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)- 1,1dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)- methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1- dimethylpropylmethyl 2,3,4-tris-O- (trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	27.2	340	CAS: 55556-81-5	26.52	648
100	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	20.9	289	NIST: 380084	27.041	918
101	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	28.7	289	NIST: 380084	27.106	918
102	Sucrose, octakis (trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	43.4	223	NIST:380091	27.29	918
103	D-(+)-Turonase, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	23.3	289	NIST: 380084	27.463	918
104	1-Monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-,2,3- bis[[trimethylsilyloxy]Propyl ester	35.4	230	CAS: 54284-45-6	28.081	498
105	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2- [[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl ester (Z,Z,Z)-	2-[[trimethylsilyloxy]-1- [[[trimethylsilyloxy]methyl]ethyl (9E, 12E, 15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	7.58	189	CAS:55521-23-8	28.396	496
106	1-Monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-,2,3- bis[[trimethylsilyloxy]Propyl ester	38.2	230	CAS: 54284-45-6	28.786	498

Tabla 6. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. de Retención	P. M.
107	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	51	124	CAS: 301-02-0	29.166	281
108	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	47	124	CAS: 301-02-0	29.231	281
109	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	47.9	124	CAS: 301-02-0	29.307	281
110	Octadecanoic acid, 2, 3-bis [[trimethylsilyloxy]propyl ester	Stearic acid, 2,3-bis(trimethylsilyl)propyl ester 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl stearate	95.2	129	CAS: 1188-75-6	29.784	502
111	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8- [[trimethylsilyloxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	8.62	236	CAS: 54477-01-9	30.445	331
112	Silane, [[3 β , 24R)-ergost-5-en-3-yl]trimethyl-	3-[[Trimethylsilyloxy]ergost-5-ene, (3 β)-24R)- Campesterol, TMS ether Campesterol, TMS	41.7	321	CAS: 55429-62-4	30.662	472
113	Tetracosanoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl tetracosanoate	76.9	147	CAS: 74367-37-6	31.041	440
114	Spiro[isochinoline-1,2'-indene],1,2,3,4,2',3'-tetrahydro-6'-hydroxy-6,7,3',7'-tetramethoxy-2-methyl-1'-oxo-	NO SINONIMOS	51.7	330	NIST: 281392	32.115	399
115	Silane, trimethyl(octadecyloxy)-	Octadecyloxy-trimethylsilane 1-(Trimethylsilyloxy)octadecane	22.6	80	CAS: 18748-98-6	32.331	342
116	Stigmasterol trimethylsilyl ether	Silane, trimethyl[[[3 β , 22E-stigmata-5,22-dien-3-yl]oxy]-	75.7	324	CAS: 14030-29-6	33.676	484
117	4-Methylmandelic acid, di-TMS	Trimethylsilyl (4-methylphenyl)[(trimethylsilyloxy)acetate	35.4	36	NIST:71909	34.587	310
118	Tocopherol- γ -tms-derivate (high mass adjustment=100%)	Tocopherol- γ -tms-derivate (high mass adjustment=50%)	56.5	77	CAS: 2733-27-9	37.85	488

10 mg de muestra liofilizada de pétalo + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 μ L agente derivatizante (N,O-bis[trimetilsilil]trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m) en modo splitless temperatura del inyector 250°C y el tiempo de splitless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min.

Tabla 7. Compuestos orgánicos de cáliz de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
1	(R)-(-)-2-Amino-1-propanol	d-Alaninol 2-Amino-1-propanol	57.9	12	CAS: 35320-23-1	0.695	75
2	Methyl Alcohol	Methanol Carbinol Methyl hydroxide	84.3	13	CAS: 67-56-1	1.421	32
3	Silane, methoxytrimethyl-	Methoxytrimethylsilane Methyl trimethylsilyl ether Trimethylmethoxysilane	43	39	CAS: 1825-61-2	1.454	104
4	Silane, methoxytrimethyl-	Methoxytrimethylsilane Methyl trimethylsilyl ether Trimethylmethoxysilane	49.9	39	CAS: 1825-61-2	1.562	104
5	Silane, (2-methoxyethyl)trimethyl-	(2-Methoxyethyl)(trimethyl)silane	32.4	82	CAS: 18173-63-2	1.595	132
6	Acetamide, 2,2,2-trifluoro-N,N-	Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide N,N-BSTFA N,N-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide	77.1	119	CAS: 21149-38-2	2.397	257
7	Trisiloxane, octamethyl-	Octamethyltrisiloxane Silane, dimethylbis(trimethylsiloxy)- 1,1,1,3,3,5,5,5-Octamethyltrisiloxane	32.1	103	CAS: 107-51-7	2.603	236
8	Egtazic acid	Ethylenebis(oxyethylenenitrilo)tetraacetic acid Ethylene glycol-O-O'-bis(2-aminoethyl)- N,N,N',N'-tetraacetic acid EGTA	11.6	183	CAS: 67-42-5	2.744	380
9	Cysthathionine, bis(trimethylsilyl) ester	Cysthathione. di-TMS Cysthathione di-TMS Thymethylsilyl 2-amino-4-((2-amino-3-oxo- 3- 3((trimethylsilyloxy)propyl)sulfanyl)butano ate	63.5	215	CAS:73090-79-6	3.297	366
10	Cysthathionine, bis(trimethylsilyl) ester	Cysthathione. di-TMS Cysthathione di-TMS Thymethylsilyl 2-amino-4-((2-amino-3-oxo- 3- 3((trimethylsilyloxy)propyl)sulfanyl)butano ate	24.4	215	CAS:73090-79-6	3.817	366
11	n-Butylamine, N,N-bis(trimethylsilyl)	n-Butyl(trimethyl)-N- (Trimethylsilyl)silamine 1-Butamine- bis-TMS	30.8	62	CAS: 18394-04-2	4.338	217
12	Silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)	Tris(trimethylsilyl)phosphate Phosphoric acid, tri(trimethylsilyl) ester Tris-(trimethylsilyl)ester	95.5	76	CAS: 10497-05-9	5.173	314
13	Butanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester	Succinic acid (2TMS) Succinic acid, di(trimethylsilyl)ester Bis(trimethylsilyl)succinate	62	38	CAS: 40309-57-7	5.487	262
14	3-Isoxazolidinone, 4-[bis(trimethylsilyl)amino]- 2-(trimethylsilyl)-	4-[Bis(trimethylsilyl)amino]-2- (trimethylsilyl)-3-isoxazolidinone	27.1	95	CAS: 55517-42-5	6.528	318
15	6-Dimethyl-(trimethylsilyl)siloxytetradecane	1,1,1,2,2-Pentamethyl-2-[(1- pentylnonyl)oxy]disilane	10.1	111	NIST: 245690	8.132	344
16	Butanedioic acid, [(trimethylsilyloxy)-, bis(trimethylsilyl) ester	Tris(trimethylsilyl)malic acid Bis(trimethylsilyl)2- [(trimethylsilyloxy)succinate Bis(trimethylsilyl) O-(trimethylsilyl)-malate	89.3	67	CAS:38166-11-9	8.371	350
17	L-Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	Proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester Pyroglutamic acid, bis(trimethylsilyl)- Pyroglutamic acid, di(trimethylsilyl)-	72.7	83	CAS: 30274-77-2	8.924	273
18	Deoxysperqualin	7-Amino(imino)methylamino-N-[(4-(3-	45.7	217	NIST: 131694	9.108	387

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
18	Deoxyspergualin	7-[Amino(imino)methyl]amino-N-[2-((4-((3-aminopropyl)amino)butyl)amino)-1-hydroxy-2-oxoethyl]heptanamide	45.7	217	NIST: 131694	9.108	387
19	Isododecyl alcohol, trimethylsilyl derivate	NO SINONIMOS	15.6	136	NIST: 298500	9.553	258
20	2,3,4-Trihydroxybutyric acid tetrakis(trimethylsilyl) deriv., (R*, R*-)	Erythoric acid, tetrakis(trimethylsilyl)deriv 2,3,4-Trihydroxybutyric acid, tetra-TMS, (R*,R*)- Trimethylsilyl 2,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]-erythro-butanoate	36.5	50	CAS: 38191-88-7	9.726	424
21	Xylulose tetrakis(trimethylsilyl)-	2,3,4,5-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentose	35.2	127	NIST:141494	10.149	438
22	Benzoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	Benzoic acid, p-(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl p-(trimethylsilyloxy)benzoate	49	85	CAS: 2078-13-9	10.637	282
23	4-Trimethylsilyloxy-4-Trimethylsilyloxycarbonylmethyl-2,5-cyclohexadiene-1-one	Trimethylsilyl (4-oxo-1-[(trimethylsilyl)oxy]-2,5-cyclohexadien-1-yl)acetate	76.5	108	NIST: 280345	11.537	312
24	Tetradecane, 2,6,10-Trimethyl-	2,6,10-Trimethyltetradecane	23.4	112	CAS: 14905-56-7	11.743	240
25	α -D-Glucopyranose, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyl)oxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	8.85	236	CAS: 54477-01-9	11.884	331
26	2-Deoxy ribose O,O',O''-tris(trimethylsilyl)-	2-Deoxy-3,4,5-tris-O-(trimethylsilyl)pentose	55.4	116	CAS:33648-76-9	12.025	350
27	2,2-Dimethyl-5-[2-(2-trimethylsilylethoxymethoxy)-propyl]-[1,3]dioxolane-4-carboxaldehyde	4,6-Dideoxy-2,3-O-(1-methylethylidene)-5-O-([2-trimethylsilyl)ethoxy]methyl)hexose	9.96	121	NIST: 190511	12.263	318
28	α -D-Galactopyranose, 1,2,3-tris-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	Trimethyl((2-methyl-6,7-bis[(trimethylsilyl)oxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-8-yl)oxy)silane	6.79	228	CAS: 56196-95-3	12.784	420
29	1,2,2,3,3,4,5,5,6,6-Decamethylhexasilinane-1,4-diol	NO SINONIMOS	4.62	129	NIST: 306571	12.827	352
30	Dihydroxyacetone dimer, tetra(trimethylsilyl)-	[(2,5-Bis[(trimethylsilyl)oxy]-5-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)-1,4-dioxan-2-yl)methoxy](trimethyl)silane	23.6	85	CAS: 28527-65-3	13.066	468
31	1,5-Anhydro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	8.2	230	NIST: 380138	13.131	452
32	α -D-Galactopyranose, 1,2,3-tris-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	Trimethyl((2-methyl-6,7-bis[(trimethylsilyl)oxy]hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-8-yl)oxy)silane	13.7	228	CAS: 56196-95-3	13.38	420
33	Dihydroacetone dime, tetra(trimethylsilyl)-	[(2,5-Bis[(trimethylsilyl)oxy]-5-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)-1,4-dioxan-2-yl)methoxy](trimethyl)silane	30.9	85	CAS: 28527-65-3	13.445	468
34	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl)ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	9.78	174	NIST: 380126	13.553	540
35	β -D-Mannopyranoside, methyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	Mannopyranoside, methyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, β -D-	4.54	135	CAS: 3504-69-6	13.727	482
36	Glucufuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexofuranoside	12.3	130	CAS: 6736-96-5	13.835	482

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
37	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexofuranoside	27	130	CAS: 6736-96-5	13.9	
38	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexofuranoside	27.7	130	CAS: 6736-96-5	13.933	482 482
39	D-(-)Ribufuranose, tetrakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	12	148	NIST: 380115	14.041	438
40	D-(-)Fructofuranose, pentakis (trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	19.3	208	NIST: 380166	14.074	540
41	D-(-)Fructofuranose, pentakis (trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	32.6	208	NIST: 380166	14.106	540
42	D-(-)Fructofuranose, pentakis (trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	18.3	208	NIST: 380166	14.215	540
43	D-(-)Fructofuranose, pentakis (trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	25	208	NIST: 380166	14.247	540
44	2-Propylpentonic acid, 2,3,4,6-tetra(trimethylsilyl)-1-glucopyranoside	NO SINONIMOS	10.4	266	NIST: 99947	15.082	594
45	Ribitol, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)ribitol Ribitol, 5TMS Ribitol, (pentakis-TMS)-	13.1	185	CAS:32381-53-6	15.332	512
46	L-(-)-Sorbose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	34.7	210	NIST: 380163	15.494	540
47	D-Glucose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	D-glucose, pentakis-O-(trimethylsilyl)- Pentakis-O-(trimethylsilyl)-D-Glucose D-Glucose, penta-TMS	6.14	154	CAS: 6736-97-6	15.538	540
48	β -D-(+)-Mannopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	9.68	200	NIST: 380130	15.57	540
49	Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D	Methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexofuranoside	3.51	130	CAS: 6736-96-5	15.603	482
50	β -D-(+)-Talopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	5.42	151	NIST:380171	15.711	540
51	β -L-Galactopyranose, 6-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	Galactopyranoside, 5-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, β -L-6-Deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexopyranose	6.52	84	CAS: 32727-31-4	15.744	452
52	α -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	42.1	340	CAS: 55556-81-5	16.123	648
53	2-Propylpentanoic acid, 2,3,4,6-tetra(trimethylsilyl)-1-glucopyranoside	NO SINONIMOS	7.8	266	NIST: 99947	16.546	594
54	Myo-Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-, myo-Trimethyl((2,3,4,5,6-pentakis(trimethylsilyl)oxy)cyclohexyl)oxy)silane .myo-Inositol (6TMS)	16	277	CAS:2582-79-8	16.578	612
55	Heptadecanoic acid, heptadecyl ester	Heptadecyl heptadecanoate	65	84	CAS: 36617-50-2	16.687	508
56	2,4,6(1H, 3H, 5H)-Pyrimidinetrione, 5-ethyl-1-methyl-5-[1-methyl-3-((trimethylsilyloxy)butyl)-3-(trimethylsilyl)-	5-Ethyl-1-methyl-5-(1-methyl-3-((trimethylsilyloxy)butyl)-3-(trimethylsilyl)-2,4,6(1H,3H,5H)-pyrimidinetrione	12.1	290	CAS:57397-42-9	16.719	400
57	β -D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Glucopyranoside, trimethylsilyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-Glucopyranose	7.49	198	CAS: 2775-90-8	16.99	540
58	α -D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Glucopyranoside, trimethylsilyl 1,2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- α -D-1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)- α -D-Glucopyranose	7.49	198	CAS: 2775-90-8	17.004	540

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
58	β -D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	Glucopyranoside, trimethylsilyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)- β -D-Glucopyranose	9.69	198	CAS: 2775-90-8	17.034	540
59	α -D-Glucopyranose, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[[trimethylsilyloxy]hexahydroprano[3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	15	236	CAS: 54477-01-9	17.066	331
60	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate	81	231	CAS: 55520-89-3	17.446	328
61	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate	96.6	200	CAS: 55520-89-3	17.478	328
62	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate	97.1	157	CAS: 55520-89-3	17.533	328
63	2-Methyl-Z-4-tetradecene	(4Z)-2-Methyl-4-tetradecene	6.27	150	NIST: 130783	17.869	210
64	Tetradecane, 2,6,10-Trimethyl-	2,6,10-Trymethyltetradecane	11.4	112	CAS:14905-56-7	18.216	240
65	2-Propylpentanoic acid, 2,3,4,6-tetra(trimethylsilyl)-1-glucopyranoside	NO SINONIMOS	12.2	266	NIST: 99947	18.313	594
66	Digitoxin	Card-20(22)-enolide, 3-[(O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl-(1.fwdarw.4)-O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl-(1.fwdarw.4)-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-hydroxy-, (3 β , 5 β)- Cardigin Crystalline digitalin	31.5	258	CAS: 71-63-6	18.66	764
67	2-Hexadecanol	Hexadecanol-2	10.3	184	CAS: 14852-31-4	18.768	242
68	Heptadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl heptadecanoate Heptadecanoic acid, TMS	51.4	100	CAS: 55517-58-3	18.877	342
69	Silane, [(3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenyl)oxy]trimethyl-	1-Trimethylsiloxy-3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecene	34.3	77	CAS:57397-39-4	19.321	368
70	Curan, 16,17-didehydro-,20.xi,-)	Cur-16-en	18.4	222	CAS: 56053-18-0	19.397	280
71	Aspidospermidin-17-ol, 1-acetyl-19,21-epoxy-15,16-dimethoxy-	13a, 3a-(Epoxyethanol)-1H-indolizino[8,1-cd]carbazol-7-ol, 6-acetyl-2,3,4,5,5a,6,11,12-octahydro-8,9-dimethoxy-	13.9	128	CAS 2122-26-1	19.538	414
72	[1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-,methyl ester	NO SINONIMOS	26.9	155	CAS: 56687-68-4	19.701	322
73	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester	Linoleic acid trimethylsilyl ester cis-9, cis-12-Octadecadienoic acid, trimethylsilyl ester	91	122	CAS: 56259-07-5	19.744	352
74	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester	Linoleic acid trimethylsilyl ester cis-9, cis-12-Octadecadienoic acid, trimethylsilyl ester	95.2	252	CAS: 56259-07-5	19.777	352
75	trans-9-Octadecenoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl(9E)-9-octadecenoate TMS trans-9-octadecenoate	28.2	161	CAS: 96851-47-7	19.842	354
76	α -Linoleic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl (3Z, 6Z, 9Z)-3,6,9-octadecatrienoate α -Linoleic acid, TMS	87.1	265	CAS: 97844-13-8	19.885	350
77	Oleic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl (9Z)-9-octadecenoate cis-9-Octadecenoic acid, trimethylsilyl ester	22.4	121	CAS: 21556-26-3	19.918	354
78	Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Stearic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl ester of octadecanoic acid	93.9	211	CAS: 18748-91-9	20.124	356
79	Digitoxin	Card-20(22)-enolide, 3-[(O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl-(1.fwdarw.4)-O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl-(1.fwdarw.4)-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-hydroxy-, (3 β , 5 β)- Cardigin Crystalline digitalin	36.3	258	CAS: 71-63-6	20.156	764
80	α -D-Glucopyranose, methyl 2-(acetilamino)-	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-	25.6	236	CAS: 54477-01-9	20.222	331

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
80	α -D-Glucopyranose, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-(((trimethylsilyl)oxy)hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	25.6	236	CAS: 54477-01-9	20.232	331
81	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-(((trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-((Trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	12.3	189	CAS: 55521-23-8	20.72	496
82	2-(2-Azepan-1-yl-2-oxoethyl)-1-phenyl-octahydro-pyrido[1,2-a]azepin-4-one	2-[2-(1-Azepanyl)-2-oxoethyl]-1-hydroxy-1-phenyloctahydropyrido[1,2-a]azepin-4(1H)-one	29.1	255	NIST: 287744	20.883	398
83	2-Hexadecanol	Hexadecanol-2	56.2	184	CAS: 14852-31-4	21.099	242
84	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-(((trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-((Trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	48	189	CAS: 55521-23-8	21.446	496
85	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	39.8	128	CAS: 301-02-0	21.479	281
86	9-Octadecenamide	Armido w Armoslip cp 9-Oleamide	50.7	181	CAS: 3322-62-1	21.587	281
87	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-(((trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-((Trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	34.4	189	CAS: 55521-23-8	21.902	496
88	Mysteric acid, 2,3-bis(trimethylsiloxy) propyl ester	2,3-Bis(trimethylsilyl)oxypropyl myristate Tetradecanoic acid, 2,3-bis-(OTMS) propyl ester	54.2	169	CAS: 1188-73-4	22.032	446
89	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-(((trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-((Trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	21.4	189	CAS: 55521-23-8	22.14	496
90	Prost-13-en-1-oic acid, 9-(methoxyimino)-11,15-bis(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester, (8.xi., 12.xi.)-	Trimethylsilyl 9-(methoxyimino)-11,15-bis(trimethylsilyloxy)prost-13-en-1-oate	23.4	377	CAS: 72150-30-2	22.249	599
91	α -D-Glucopyranose, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-(((trimethylsilyl)oxy)hexahydropyrano[3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	31.3	236	CAS: 54477-01-9	22.314	331
92	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2-(((trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2-((Trimethylsilyl)oxy)-1-(((trimethylsilyl)oxy)methyl)ethyl (9E, 12E, 15E)-9,12,15-octadecatrienoate	22.8	189	CAS: 55521-23-8	22.346	496
93	Eicosanoic acid, trimethylsilyl ester	Arachidic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl icosanoate Eicosanoic acid, TMS ester	66.3	64	CAS: 55530-70-6	22.487	384
94	i-Propyl 9-octadecenoate	NO SINONIMOS	6.55	182	NIST: 336671	22.661	324
95	Uleine, 1,12-dihydro-13-hydroxy-	NO SINONIMOS	14.8	180	CAS: 4532-71-2	22.91	284
96	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5-epoxy-6-methoxy-17-methyl-, (α)-	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17- methyl Oripavine 6,7,8,14-Tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17-methyl-morphinan-3-ol	25.8	229	CAS: 467-04-9	22.943	297
97	9-Octadecenamide	Armido w Armoslip cp 9-Oleamide	70.3	181	CAS: 3322-62-1	23.214	281
98	Estra- 1,3,5(10)-trien-17 β -ol	Estra-1,3,5(10)trien-17-ol, (17 β)- Estradiol, 3-deoxy-	40.8	168	CAS: 2529-64-8	23.81	256

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
99	5 α -Cholest-8-en-3-one, 14-methyl-	14-methylcholest-8-en-3-one	67	173	CAS: 5234-53-7	24.092	398
100	9-Octadecenoic acid, 2[(trimethylsilyloxy)-1-[[[(trimethylsilyloxy)methyl]ethyl ester	2-[(Trimethylsilyloxy)-1-[[[(trimethylsilyloxy)methyl]ethyl 9-octadecenoate 9-octadecenoic acid, 1,3-bis-(OTMS)-2-propyl ester	36.5	219	CAS: 56554-42-8	24.395	500
101	α -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	21.6	340	CAS: 55556-81-5	24.569	648
102	D-(+)Turanose, octakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	21.2	289	NIST: 380084	24.677	918
103	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	33.6	223	NIST:380091	24.742	918
104	Hexadecanoic aci, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester	1-Monopalmitin trimethylsilyl ether 1-Monopalmitoylglycerol trimethylsilyl ether	96.9	164	CAS: 1188-74-5	25.057	474
105	Docosanoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl docosanoate Behenic acid, trimethylsilyl ester	84.3	140	CAS: 74367-36-5	25.794	412
106	Acetic acid, 1-(10,13-dimethyl-3-oxo-2,3,8,10,12,13,14,14,16,17-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)ethyl ester	3-ocopregna-4,6,9(11)-trien-20-yl acetate	13.7	264	NIST:191097	25.924	354
107	Nonamide, N-[[3-methoxy-4-[(trimethylsilyloxy)phenyl]methyl]-8-methyl	N-(3-Methoxy-4-[(trimethylsilyloxy)benzyl]-8-methylnonanamide	74.6	231	CAS: 56784-16-8	26.314	379
108	D-(+)Turanose, octakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	23.1	289	NIST: 380084	26.52	918
109	Hexopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)hexopyranose	13.2	282	CAS: 55521-15-8	26.661	540
110	D-(+)Turanose, octakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	33.3	289	NIST: 380084	27.073	918
111	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	45	223	NIST: 380091	27.29	918
112	Lanost-7-en-3-one	NO SINONIMOS	29.4	198	CAS: 5985-80-8	28.331	426
113	2-Monostearin trimethylsilyl ether	Octadecanoic acid, 2[(trimethylsilyloxy)methyl]ethyl ester 2-Monostearoylglycerol trimethylsilyl ether	71.2	161	CAS: 53336-13-3	28.753	502
114	9-Octadecenamide, (Z)-	Adogen 73 Oleamide Oleic acid amide	51.4	124	CAS:301-02-0	29.231	281
115	Octadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester	Stearic acid, 2,3-bis(trimethylsilyl)propyl ester 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl stearate	97.5	129	CAS 1188-75-6	29.719	502
116	Stigmatasa-5,22-dien-3-ol, acetate, (3 β)-	Stigmatasa-5,22-dien-3 β -ol, acetate Stigmasterol acetate Stigmasteryl acetate	39.3	199	CAS: 4651-48-3	30.445	454
117	Silane, [[[3 β , 24R)-ergost-5-en-3-yl]oxy]trimethyl-	3-[(trimethylsilyloxy)ergost-5-ene, (3 β ,24R)- Campesterol, TMS ether	66.8	321	CAS: 55429-62-4	30.662	472
118	Tetracosanoic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl tetracosanoate	80.6	147	CAS: 74367-37-6	31.042	440
119	Spiro[isochinole-1,2'-indene], 1,2,3,4,2',3'-tetrahydro-6'-hydroxy-6,7,3',7'-tetramethoxy-2-methyl-1'-oxo-	NO SINONIMOS	28.2	330	NIST: 281392	32.082	399
120	1-Monooleoylglycerol trimethylsilyl ether	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester 2,3-Bis[(trimethylsilyloxy)propyl (9Z)-9-octadecenoate	12	286	CAS: 54284-47-8	32.288	500

Tabla 7. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinonimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
121	Stigmasterol trimethylsilyl ether	Silane, trimethyl[[(3 β , 22E)stigmatasa-5,22-dien-3-yl]oxy]- Silane, trimethyl(stigmatasa-5,22-dien-3 β -yloxy)	82	324	CAS: 14030-29-6	33.644	484
122	Silane, (hexacosyloxy)trimethyl-	Hexacosy-trimethylsilane 1-(Trimethylsilyloxy)hexacosane	74.2	57	CAS: 391679-86-0	35.107	454
123	β -Sitosterol trimethylsilyl ether	Silane, trimethyl[[(3 β)-stigmast-5-en-3-yl]oxy]- Silane, trimethyl(stigmast-5-en-3 β -yloxy)-	79.5	294	CAS: 2626-46-9	39.141	486

10 mg de muestra liofilizada de cáliz + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 μ L agente derivatizante (N,O-bis[trimetilsilil]trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m) en modo splitless temperatura del inyector 250°C y el tiempo de splitless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min.

Tabla 8. Compuestos orgánicos de pistilo de Colorín obtenidos de EM/CG. Prob., probabilidad de la presencia del compuesto expresado en %, m/z; relación de masa-carga; NIST/CAS#, número de catálogo de clasificación química; P.M., peso molecular.

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
1	Androstane-11,17-dione, 3-[(trimethylsilyloxy)-, 17-[O-(phenylmethyl)oxime], (3 α , 5 α)-	3-[(trimethylsilyloxy)androstane-11,17-dione 17-(O-benzyloxime)	56	127	CAS: 57305-11-0	1.085	481
2	Methyl Alcohol	Methanol Carbinol Methyl hydroxide	57.8	16	CAS: 67-56-1	1.161	32
3	Acetamide, 2,2,2-trifluoro-N-(trimethylsilyl)-	2,2,2-Trifluoro-N-(trimethylsilyl)acetamide	31.3	89	CAS: 55982-	2.104	185
4	Methyl 2-(trimethylsilyloxy)acetate	NO SINONIMOS	24	59	NIST: 366869	2.755	162
5	Dimethyl(trimethylsilyl)methoxysilane	1-Methoxy-1,1,2,2,2-pentamethylsilane	26.9	68	CAS: 18107-	3.774	162
6	Propanoic acid, 3-[(Trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester	3-Trimethylsilyloxypropionic acid, trimethylsilyl ester β -lactate di-TMS Trimethylsilyl 3-	68.2	104	CAS: 55162-32-8	4.912	234
7	2- Pentamethylsilyloxypropane	1-Isopropoxy-1,1,2,2,2-pentamethylsilane	6.91	54	CAS: 78669-	5.324	190
8	1,3-Bis(trimethylsilyloxy)butane	Silane, [(1-methyl-1,3-2,2,4,8,8-Pentamethyl-3,7-dioxa-2,8-Butane -1,3-diol, bis-TMS	6.57	106	CAS: 56771-	5.368	234
9	Glycerol, tris(trimethylsilyl)ether	Trimethyl ether of glycerol 3,7-Dioxa-2,8-disilanonane, 2,2,8,8-tetramethyl-5-[(trimethylsilyloxy)-	14.1	157	CAS 6787-10-6	5.552	308
10	Propanedioic acid, bis (trimethylsilyl) ester	Malonic acid (bis- TMS)	52.7	60	CAS: 18457-04-0	5.704	248
11	2-Pentamethylsilyloxypropane	1-Isopropoxy-1,1,2,2,2-pentamethylsilane	10.6	54	CAS: 78669-50-8	6.419	190
12	Glycerol, tris(trimethylsilyl) ether	Trimethylsilyl ether of glycerol	81.4	144	CAS: 6787-10-6	6.766	308
13	Silanol, trimethyl-, phosphate	Tris(trimethylsilyl) phosphate Phosphoric acid. Tris(trimethylsilyl)ester	96.9	76	CAS: 10497-05-9	7.07	314
14	Butanedioic acid, bis(trimethylsilyl)ester	Succinic acid (2 TMS) Succinic acid, di (trimethylsilyl) ester	88.7	108	CAS: 40309-57-7	7.373	262
15	Butanedioic acid, methyl-, bis (trimethylsilyl) ester	2-Methylsuccinic acid, di(trimethylsilyl) ester Bis(trimethylsilyl)2-methylsuccinate	18.1	118	CAS: 55557-26-1	7.601	276
16	2-Butenedioic acid (E)-, bis (trimethylsilyl) ester	Fumaric acid, bis(trimethylsilyl)ester Bis(trimethylsilyl)fumarate	87.7	72	CAS: 17962-03-7	7.937	260
17	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahydropyrano [3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	30.9	236	CAS: 54477-01-9	8.544	331
18	11-(Trimethylsilylmethyl)dimethylsilyloxy-1-undecene	Dimethyl[(trimethylsilyl)methyl](10-undecenyl)oxy)silane	20.5	82	NIST: 216867	8.696	314

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
19	D-Ribonic acid, 5-deoxy-2,3-bis-O-(trimethylsilyl)-, γ -lactone	D-Ribonic acid, 5-deoxy-2,3-bis-O-(trimethylsilyl)-, lactone	19.7	162	CAS:62338-19-6	9	276
20	2-Isopropyl-3-ketobutyrate, bis (O-trimethylsilyl)-	Trimethylsilyl (2Z)-2-Isopropyl-3-[(trimethylsilyloxy)-2-butenate	49.7	161	NIST: 79700	9.791	288
21	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahidropirano [3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	32.9	236	CAS: 54477-01-9	10.442	331
22	Butanedioic acid [(trimethylsilyloxy)-, bis (trimethylsilyl) ester	Tris (trimethylsilyl)malic acid Bis(trimethylsilyl) 2-	87.8	67	CAS: 38166-11-9	10.778	350
23	Bis(trimethylsilyl)(2R, 3R)-2-hydroxy-3-[(trimethylsilyloxy)butanedioate	NO SINONIMOS	8.69	157	NIST: 353241	11.114	366
24	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahidropirano [3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	27.7	236	CAS: 54477-01-9	11.688	331
25	2,2-Dimethyl-5-[2-(2-trimethylsilylethoxymethoxy)-propyl]-[1,3]dioxolane-4-carboxaldehyde	4,6-Dideoxy-2,3-O-(1-methylethidene)-5-O[(2-(trimethylsilyloxy)methyl)hexose	13.8	121	NIST: 190511	12.068	318
26	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahidropirano [3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	29.5	236	CAS: 54477-01-9	12.296	331
27	D-(-)-Ribofuranose, tetrakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	19.9	148	NITS:380115	13.011	438
28	Uridine, 2',3',5'-tris-O-(trimethylsilyl)-	Uridine, 2',3',5'-tris-O-TMS	8.6	261	CAS:10457-16-6	13.206	460
29	D-(-)-Ribofuranose, tetrakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	20.6	148	NIST: 380115	13.239	438
30	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahidropirano [3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	12.2	228	CAS: 56196-95-3	13.282	420
31	Xylonic acid, 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, δ -lactone, D-	Xylonic acid, 1,5-lactone, tris- TMS, D-	21.4	84	CAS: 32384-59-1	13.434	364
32	D-(+)-Ribono-1,4-lactone, tris(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	49	175	NIST: 380154	13.51	364
33	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetilamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahidropirano [3,2-d][1,3,2]dioxaborin-7-yl)acetamide	18.5	236	CAS: 54477-01-9	14.605	331
34	D-(-)-Lyxose, tetrakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (anti)	NO SINONIMOS	5.17	204	NIST: 380185	15.212	467
35	1,5-Anhydro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	8.33	230	NIST: 380138	15.44	452
36	D-(-)-Lyxose, tetrakis(trimethylsilyl) ether, methyloxime (anti)	NO SINONIMOS	4.68	204	NIST: 380185	15.548	467
37	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	7.78	174	NIST:380126	15.667	540
38	1,5-Anhydro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	19.9	230	NIST: 380138	15.776	452
39	D-(-)-Ribofuranose, tetrakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	12.6	148	NIST: 380115	15.971	438

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
40	Dihydroxycetone dimer, tetra(trimethylsilyl)-	[(2,5-Bis(trimethylsilyloxy)-5-((trimethylsilyloxy)methyl)-1,4-dioxan-2-yl)methoxy](trimethyl)silane	34.9	85	CAS: 28527-65-3	16.155	468
41	Fructofuranoside, methyl 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, α -D-	Methyl 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hex-2-ulofuranoside	28.2	45	CAS: 30788-71-7	16.275	482
42	D-(-)-Tagatofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	14.5	194	NIST: 380125	16.383	540
43	Fructofuranoside, methyl 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, α -D-	Methyl 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hex-2-ulofuranoside	30.2	45	CAS: 30788-71-7	16.578	482
44	D-(-)-Fructofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	29.9	210	NIST:380167	16.795	540
45	d-(-)-Fructose, pentakis(trimethylsilyl)ether	1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-d-fructopyranose	22	265	NIST:332829	17.034	540
46	D-(-)-Ribofuranose, tetrakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)	NO SINONIMOS	14.2	148	NIST:380115	17.185	438
47	α -D-(+)-Talopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	3.91	202	NIST: 380170	17.402	540
48	β -D-(+)-Talopyranose, pentakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	3.67	151	NIST:380171	17.446	540
49	Glucufuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, α -D	Methyl, 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexofuranoside	12.6	130	CAS: 6736-96-5	17.478	482
50	D-Allofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	11.3	195	NIST: 380204	17.521	540
51	D-Psicofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	10.2	202	NIST: 380128	17.825	540
52	d-(-)-Fructose, pentakis(trimethylsilyl)ether	1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-d-fructopyranose	8.62	265	NIST: 332829	17.933	540
53	Hexopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4,6-Pentakis-O-(trimethylsilyl)hexo' pyranose	7.32	282	CAS: 55521-15-8	17.977	540
54	L-(-)-Sorbose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	29.4	210	NIST: 380163	18.237	540
55	β -D-(+)-Mannopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	7.01	200	NIST: 380130	18.28	540
56	4-O- β -Galactopyranosyl-D-mannopyranose, octakis(trimethylsilyl) ether (isomer 2)	NO SINONIMOS	4.35	240	NIST: 380088	18.356	918
57	1,5-Anhydro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	6.68	230	NIST:380138	18.389	452
58	β -D-(+)-Talopyranose, pentakis(trimethylsilyl)ether	NO SINONIMOS	5.52	151	NIST:380171	18.465	540
59	α -D-(+)-Talopyranose, pentakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	5.05	202	NIST: 380170	18.508	540
60	β -DL-Lyxopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1,2,3,4-Tetrakis-O-(trimethylsilyl)pentopyranose	4.49	141	CAS: 56271-66-0	18.541	438

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
61	1,5-Anhidro-D-sorbitol, tetrakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	17.4	230	NIST: 380138	18.844	452
62	Myo-Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	Inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-, myo-Trimethyl((2,3,4,5,6-pentakis(trimethylsilyloxy)cyclohexyl)oxy)silane	51.1	239	CAS: 2582-79-8	19.3	612
63	D-Glucose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	D-Glucose, pentakis-O-(trimethylsilyl)- Pentakis-O-(trimethylsilyl)-D-glucose	7.61	154	CAS: 6736-97-6	19.755	540
64	Hexanoic acid, trimethylsilyl ester	Palmitic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl palmitate	98.3	157	CAS: 55520-89-3	20.319	328
65	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahydropyrano [3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	39.2	236	CAS: 54477-01-9	20.774	331
66	β -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	19.5	340	CAS: 55556-80-4	20.969	648
67	9,12-Octadecanoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester	Linoleic acid trimethylsilyl ester cis-9, cis-12-Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	95	252	CAS: 56259-07-5	23.203	352
68	α -Linolenic acid, trimethylsilyl ester	Trimethylsilyl (3Z, 6Z, 9Z)-3,6,9-octadecatrienoate α -Linolenic acid, TMS	89.8	265	CAS: 97844-13-8	23.658	350
69	α -D-Glucopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-3-O-(trimethylsilyl)-, cyclic methylboronate	N-(6-Methoxy-2-methyl-8-[(trimethylsilyloxy)hexahydropyrano [3,2-d][1,3,2]dioxaborinin-7-yl)acetamide	14	236	CAS: 54477-01-9	23.691	331
70	Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	Stearic acid, trimethylsilyl ester Trimethylsilyl ester of octadecanoic acid	97.5	174	CAS: 18748-91-9	23.918	356
71	α -D-Glucopyranose, 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, bis(trimethylsilyl) phosphate	1-O-Bis(trimethylsilyloxy)phosphoryl-2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)hexopyranose	18.3	307	CAS: 55520-79-1	23.962	692
72	Hexadecanoic acid, 1-(hidroxymethyl)-1,2-ethanedil ester	Palmitin, 1,2-di-Dipalmitin Glycerol 1,2-dipalmitate	13.7	339	CAS: 761-35-3	25.208	568
73	Eicosanoic acid, trimethylsilyl ester	Arachidic acid, trimethylsilyl ester	63.3	251	CAS: 55530-70-6	29.415	384
74	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5-epoxy-6-methoxy-17-methyl-, (5 α)-	Oripavine 6,7,8,14-Tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17-methyl-morphinan-3-ol	30.2	229	CAS: 467-04-9	29.599	297
75	Phenanthrene-1-acetaldehyde, 7-acetoxy-2 β -cyano-2,4b-dimethyl-	7-cyano-4a,7-dimethyl-8-(2-oxoethyl)tetradecahydro-2-phenanthrenyl acetate	19.5	292	CAS: 76389-51-0	30.055	345
76	Cephalotaxine, 3-deoxy-3,11-epoxy-, (3 α , 11 α)-	NO SINONIMOS	17.2	247	CAS: 49686-60-4	30.174	313
77	Morphinan-3-ol, 6,7,8,14-tetrahydro-4,5-epoxy-6-methoxy-17-methyl-, (5 α)-	Oripavine 6,7,8,14-Tetrahydro-4,5- α -epoxy-6-methoxy-17-methyl-morphinan-3-ol	18.1	232	CAS: 2856-16-7	30.207	313
78	Morphinan, 7,8-didehidro-4,5-epoxy-3,6-dimethoxy-17-methyl-, (5 α , 6 α)-	Codeine methyl ether Dimethylmorphine	18.7	232	CAS: 2859-16-7	30.25	313
79	Cephalotaxine, 3-deoxy-3,11-epoxy-, (3 α , 11 α)-	NO SINONIMOS	13.4	247	CAS: 49686-60-4	30.282	313
80	Morphinan, 7,8-didehidro-4,5-epoxy-3,6-dimethoxy-17-methyl-, (5 α , 6 α)-	Codeine methyl ether Dimethylmorphine	13.8	232	CAS: 2859-16-7	30.358	313
81	Morphinan-6-ol, 7,8-didehidro-4,5-epoxy-	Codeine TMS derivate	15.5	281	CAS: 74367-	30.434	371

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
81	Morphinan-6-ol, 7,8-didehidro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-methyl-6-(trimethylsilyl)-, (5 α , 6 α)-	Codeine TMS derivate Codeine, O-trimethylsilyl-	15.5	281	CAS: 74367-14-9	30.434	371
82	Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	3-Ethyl-5-(2'-ethylbutyl)octadecane 3-Ethyl-5-(2-ethylbutyl)octadecane	18.9	317	CAS: 55282-12-7	30.694	366
83	α -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl, 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	24.9	340	CAS: 55556-81-5	32.256	648
84	D-(+)-Turanose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	20.2	289	NIST: 380084	32.483	918
85	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	53.6	223	NIST: 380091	32.592	918
86	2,4-Imidazolidinedione, 5-[3,4-bis(trimethylsilyloxy)phenyl]-3-methyl-5-phenyl-1-(trimethylsilyl)	5-(3,4-Bis(trimethylsilyloxy)-1,5-cyclohexadien-1-yl)-3-methyl-5-phenyl-1-(trimethylsilyl)-2,4-imidazolidinedione	21.7	376	CAS: 5517-85-6	32.711	516
87	1,3-Dipalmitin trimethylsilyl ether	Hexadecanoic acid, 2-[(trimethylsilyloxy)-1,3-propanediyl ester Glycerol, 1,3-dipalmitate, 2-O-TMS-	36.9	413	CAS: 53212-95-6	32.744	640
88	Hexadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester	1-Monopalmitin trimethylsilyl ether 1-Monopalmitoylglycerol trimethylsilyl ether	94	266	CAS: 1188-74-5	32.863	474
89	Aucubin, hexakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	26.8	269	NIST: 380085	32.971	778
90	1H-Cyclopropa[3,4]benz[1,2-e]azulene-4a, 5, 7b, 9, 9a(1aH)-pentol, 3-[(acetyloxy)methyl]-1b,4,5,7a,8,9-hexahydro-1,1,6,8-tetramethyl-, 5,9,9a-triactate, [1aR-(1 α , 1b β , 4a β , 5 β , 7 α , 7b α , 8 α , 9 β , 9 α)]-	5, 9a-Bis(Acetyloxy)-3-[(acetyloxy)methyl]-4a-7b-dihydroxy-1,1,6,8-tetramethyl-1a,1b,4,4a,5,7a,7b,8,9,9a-decahydro-1H-cyclopropa[3,4]benzo[1,2-E]azulen-9-yl acetate	25	449	CAS: 77698-37-4	33.199	534
91	Isoquinole, 1-[(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-6-methoxy-	2-Methoxy-6-[(6-methoxy-1-isoquinolinyl)methyl]phenol	13.6	185	NIST: 124302	33.351	295
92	D-Glucose, 6-O- α -D-galactopyranosyl-, bis-O-(trimethylsilyl)deriv., cyclic tris(methylboronate)	NO SINONIMOS	9.89	295	CAS: 72347-76-3	33.394	558
93	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	46.8	223	NIST: 380091	33.503	918
94	D-(+)-Turanose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	29.2	289	NIST: 380084	33.611	918
95	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	31.9	223	NIST: 380091	33.839	918
96	(Z)-Trimethylsilyl 7-((2R, 3R, 4S)-4,6-bis(trimethylsilyloxy)-2-[(S,E)-3-(trimethylsilyloxy)oct-1-enyl]-terahydro-2H-pyran-3-yl)hept-5-enoate	Thromboxane B2, O,O',O''-tris(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	19.7	412	NIST: 378734	34.034	658
97	D-(+)-Turanose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	28.8	289	NIST: 380084	34.11	918
98	Sucrose, octakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	51.5	223	NIST: 380091	34.186	918
99	β -D-Glucopyranosiduronic acid, 3-(5-ethylhexahydro-2,4,6-trioxo-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-, methyl ester	3-(5-Ethyl-2,4,6-trioxohexahydro-5-pyrimidinyl)-1,1-dimethylpropyl methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)hexopyranosiduronate	33.6	340	CAS: 55556-80-4	34.37	648

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
100	D-Glucose, 6-O- α -D-galactopyranosyl-, bis-O-(trimethylsilyl)deriv., cyclic tris(methylboronate)	NO SINONIMOS	52.9	295	CAS: 72347-76-3	34.673	558
101	1-Monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester Linoleic acid, 2,3-bis-(O-TMS)-propyl ester	48.2	230	CAS: 54284-45-6	34.944	498
102	4H-Cyclopropa[5'.6']benz[1'.2':7.8]azuleno[5.6-b]oxiren-4-one, 8-(acetyloxy)-1, 1a, 1b, 1c, 2a, 3, 3a, 6a, 6b, 7, 8, 8a-dodecahydro-3a, 6b, 8a-trihydro-2a-(hydroxymethyl)-1, 1, 5, 7-tetramethyl-, (1 α a, 1 β β , 1c β , 2a β , 6a α , 6b α , 7 α , 8 β , 8a α)-	3a, 6b, 8a-Trihydroxy-2a-(hydroxymethyl)-1, 1, 5, 7-tetramethyl-4-oxo-1a, 1b, 1c, 2a, 3, 3a, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a-dodecahydro-1H-cyclopropa[5'.6']benzo[1'.2':7.8]azuleno [5,6-b]oxiren-8-yl acetate	31.6	289	CAS: 77646-23-2	35.02	422
103	(5 β)Pregane-3, 20 β -diol, 14 α , 18 α -[4-methyl-3-oxo-(1-oxa-4-azabutane-1,4-diylo)-diacetate	NO SINONIMOS	13.9	405	NIST: 194303	35.053	489
104	13-Docosenamide, (Z)-	Erucylamide Crodamide E	77.8	166	CAS: 112-84-5	35.172	337
105	Octadecanoic acid, 2,3-bis(trimethylsilyloxy)propyl ester	Stearic acid, 2,3-bis(trimethylsilyl) propyl ester Octadecanoic acid, 2,3-bis-(O TMS) propyl ester	94.7	129	CAS: 1188-75-6	35.281	502
106	Aucubin, hexakis(trimethylsilyl) ether	NO SINONIMOS	7.82	269	NIST: 380085	35.508	778
107	Cholest-7-en-6-one, 3-(acetyloxy)-9-hydroxy-, (3 β , 5 α)-	Viperidone acetate 9-Hydroxy-6-oxocholest-7-en-3-yl acetate	54	351	CAS: 863-40-1	35.628	458
108	3-Pyridinecarboxylic acid, 2,7,10-tris(acetyloxy)-1, 1a, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 11a-decahydro-1, 1, 3, 6, 9-pentamethyl-4-oxo-4a, 7a-epoxy-5H, cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-(1aR*, 2R*, 3S*, 4aR*, 6S*, 7S*, 7aS*8E, 10R*, 11R*, 11aS*)]-	NO SINONIMOS	18.8	578	CAS: 51906-00-4	35.703	597
109	1H-Cyclopropa[3,4]benz[1,2-e]azuleno-5, 7b, 9, 9a-tetrol, 3-[(acetyloxy)methyl]-1a, 1b, 4, 4a, 5, 7a, 8, 9-ocahydro-1, 1, 6, 8-tetramethyl-, 9-9a-diacetate, [1aR-(1a α , 1b β , 4a β , 5 β , 7a α , 7b α , 8 α , 9 β , 9a α)-	9a-(Acetyloxy)-3-[(acetyloxy)methyl]-5, 7b-dihydroxy-1, 1, 6, 8-tetramethyl-1a, 1b, 4, 4a, 5, 7a, 7b, 8, 9, 9a-decahydro-1H-cyclopropa[3,4]benzo[1,2-E]azuleno-9-yl acetate	43.3	449	CAS: 77550-15-3	35.92	476
110	Podocarpa-1, 8, 11, 13-tetraen-3-one, 14-isopropyl-1, 13-dimethoxy	5.zeta.-podocarpa-1, 8, 11, 13-tetraen-3-one, 14-isopropyl-1, 13-dimethoxy	9.43	261	CAS: 18326-20-0	35.964	342
111	25-Norisopropyl-9, 19-cyclolanostan-22-en-24-one, 3-acetoxy-24-phenyl-4, 4, 14-trimethyl-	3a, 6, 6, 12a-tetramethyl-1-[(2E)-1-methyl-4-oxo-4-phenyl-2-butenyl]tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]cyclopropa[e]phenanthren-7-yl acetate	70.6	414	NIST: 194000	36.04	516
112	2, 4, 6, 8, 10-Tetradecapentanoic acid, 9a-(acetyloxy)-1a, 1b, 4, 4a, 5, 7a, 7b, 8, 9, 9a-decahydro-4a, 7b-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)-1, 1, 6, 8-tetramethyl-5-oxo-1H-cyclopropa[3, 4]benz[1, 2-e]azuleno-9-yl ester, [1aR-(1a α , 1b β , 4a β , 7a α , 7b α , 8 α , 9 β , 9a α)-	9a-(Acetyloxy)-4a, 7b-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)-1, 1, 6, 8-tetramethyl-5-oxo-1a, 1b, 4, 4a, 5, 7a, 7b, 8, 9, 9a-decahydro-1H-cyclopropa[3, 4]benzo[1, 2-E]azuleno-9-yl(2E, 4E, 6E, 8E, 10E)-2, 4, 6, 8, 10-tetradecapentaenoa	15.8	597	CAS: 77550-17-5	36.191	606
113	Cholestano [7, 8-a]cyclobutane, 3-methoxy-6-oxo-2'-methylene	1-(1, 5-Dimethylhexyl)-8-methoxy-10a, 12a-dimethyl-5-methylenehexadecahydrocyclobuta[m]cyclopenta[a]phenanthren-6(4H)-one	20.1	419	NIST: 195950	36.527	454
114	Glycine, N-[(3 α , 5 β , 7 α , 12 α)-24-oxo-3, 7, 12-tris(trimethylsilyloxy)cholano-24-yl]-, methyl ester	methyl ((24-oxo-3, 7, 12-tris(trimethylsilyloxy)cholano-24-yl)amino)acetate	39.5	325	CAS: 57326-16-6	36.831	695
115	17-(1, 5-Dimethylhexyl)9, 10, 13-dimethyl-3-styrylhexadecahydroxyclopenta[a]phenanthren-2-one	3-[(Z)-2-Phenylethenyl]cholestan-2-one	34.7	375	NIST: 210749	36.983	488
116	Propanoic aci. 2-(3-acetoxv-4.4.14-	2-(3-Acetoxv-4.4.10.13.14-pentamethyl-	11.6	386	NIST: 194012	37.102	430

Tabla 8. (continuación)

Núm.	Nombre del compuesto	Sinónimo	Prob. %	m/z	NIST/CAS #	Min. retención	P.M.
118	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl ester] (Z,Z,Z)-	2,3-Bis[(trimethylsilyloxy)propyl (9E,12E,15E)- 9,12,15-octadecatrienoate	33.1	258	CAS: 55521-22-7	37.633	496
119	(+)- α Tocopherol, O-trimethylsilyl-	NO SINONIMOS	88	259	CAS: 2733-26-8	38.013	502
120	Campesterol	Ergost-5-en-3-ol, (3 β , 24R)-	15.9	284	CAS: 474-62-4	38.728	400
121	(5 β)Pregane-3, 20 β -diol, 14 α , 18 α -[4-methyl-3-oxo-(1-oxa-4-azabutane-1,4-diyloxy)-diacetate	NO SINONIMOS	38.4	405	NIST: 194303	38.837	489
122	Silane, [[3 β , 24R]ergost-5-en-3-yl]oxy]trimethyl-	Campesterol, TMS ether	88.9	321	CAS: 55429-62-4	39.032	472
123	Stigmasterol trimethylsilyl ether	Silane, trimethyl [[[3 β , 22E-stigamata-5,22-dien-3-yl]oxy]-	93.7	324	CAS: 14030-29-6	39.368	484
124	γ -sitosterol	Stigmast-5-en-3-ol, (3 β , 24S)-	66.5	297	CAS: 83-47-6	39.639	414
125	β -Sitosterol trimethylsilyl ether	Silane, trimethyl[[[3 β]-stigmast-5-en-3-yl]oxy]	93.8	294	CAS: 2625-46-9	39.943	486
126	Pregn-5-en-20-one, 3,16-bis[(trimethylsilyloxy)-, (3 β , 16 α)-	3,16-Bis[(trimethylsilyloxy)pregn-5-en-20-one	25.6	347	CAS: 40822-79-5	40.051	476
127	Betulin	Lup-20(29)-ene-3,28-diol, (3 β)-	30.2	394	CAS: 473-98-3	40.474	442
128	9,19-Cyclokanostane-3,7-diol	1-(1,5-Dimethylhexyl)-3 α ,6,6,12a-tetramethyltetradecahydro-1H-cyclopenta[a]cyclopropa[e]phenanthrene-4,7-diol	21.4	387	NIST: 186589	40.962	444
129	4'-Apo- β -carotenic acid	Neuroporaxanthin	28.6	480	CAS: 2468-88-4	41.601	498
130	1-Monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether	Linoleic acid, 2,3-bis-(O-TMS)-propyl ester	26.2	230	CAS: 54284-45-6	41.84	498

10 mg de muestra liofilizada de pistilo + 1 mL de metanol grado HPLC. 50 μ L agente derivatizante (N,O-bis[trimethylsilyl]trifluoro acetamida, BSTFA). EM-CG Agilent 7890 AA con un detector cuadrupolo 5975, con un sistema de ionización de 50 eV en un rango de masas de 50-700 m/z. Columna HP-SMS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m) en modo splitless temperatura del inyector 250°C y el tiempo de splitless de 2.5 min. Temperatura inicial: 100°C/1 min; luego, 220°C a una razón de 6 °C/min (durante 1.23 min); 290°C a razón de 10°C; 310°C a razón de 40°C por 7.5 min. Gas acarreador: helio 1 mL/min.