

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



**Estimación del Efecto Inhibitorio de *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus* con
Cinco Extractos Vegetales**

Por:

FERMÍN GÓMEZ GÓMEZ

Tesis

Presentada como Requisito Parcial Para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila; México
Junio de 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FITOMEJORAMIENTO

**Estimación del Efecto Inhibitorio de *Alternaria solani* Y *Aspergillus flavus*
con Cinco Extractos Vegetales**

Por:

FERMIN GÓMEZ GÓMEZ

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

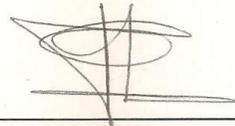
Aprobada



Dr. Alfonso López Benítez
Asesor Principal



M.C. José Ángel Daniel González
Coasesor



M.C. Roberto Espinoza Zapata
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2012

Coordinación
de Agronomía

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS	vi
ÍNDICE DE CUADROS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
Justificación del trabajo	5
Objetivos	6
Hipótesis	6
REVISION DE LITERATURA	7
Importancia de los extractos vegetales	11
Métodos para la elaboración de extractos vegetales	12
Características deseables en una especie vegetal para explorar su potencial biofúngicida o bioinsecticida	13
Ventajas del uso de los extractos naturales	14
Descripción de <i>Alternaria solani</i>	14
Clasificación taxonómica de <i>Alternaria solani</i>	15
Importancia económica de <i>Alternaria solani</i>	16
Distribución geográfica	16
Síntomas de la enfermedad	17
Ciclo de la Enfermedad	18
Epidemiología	18
Control	19
Descripción de <i>Aspergillus flavus</i>	19
Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus flavus</i>	20
Epidemiología	20
Control	21
MATERIALES Y METODOS	22
Localización del estudio	22
Materiales biológicos	22
Descripción de las especies utilizadas para la obtención de los extractos	23
<i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)	23
Clasificación Taxonómica de <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
Componentes químicos	24

Usos	24
Larrea tridentata (Gobernadora)	24
Clasificación taxonómica de <i>Larrea tridentata</i>	24
Composición química.....	25
Uso y toxicidad	26
Hábitat.....	26
Cinnamomum zeylannicum (Canela).....	27
Clasificación Taxonómica de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	27
Componentes químicos	28
Usos	28
Syzygium aromaticum (Clavo).....	28
Clasificación Taxonómica de <i>Syzygium aromaticum</i>	28
Composición química.....	29
Usos	29
Allium sativum (Ajo)	30
Clasificación Taxonómica de <i>Allium sativum</i>	30
Componentes químicos	31
Obtención de la cepa del hongo utilizada	31
Procedimiento experimental	32
Trabajo en laboratorio.....	32
Preparación de extractos.....	32
Fungicida Tecto 60 (Tiabendazol).....	33
Diseño experimental.....	34
Modelo estadístico.....	34
Análisis de Varianza	34
RESULTADOS Y DISCUSION	36
CONCLUSIONES	42
LITERATURA CITADA	43

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por permitirme ser parte de esta historia, donde el esfuerzo es compensado al final del día, por darme la sabiduría que emana de mí ser. Por guiarme en mi andar a lo largo de mi vida.

Al departamento de Fitomejoramiento por ser mi segunda casa y albergarme durante mi estancia en esta Universidad.

Al Dr. Alfonso López Benítez por su valiosa ayuda en esta investigación que culminó en esta tesis y por toda su sabiduría brindada.

Al M.C. Francisco Gordillo por su valiosa ayuda en el Análisis Estadístico.

A los M.C José Ángel Daniel González y Roberto Espinoza Zapata por su valiosa colaboración en este trabajo de investigación.

A la Lic. Adela Isabel Vázquez Castillo por creer en mí y por su apoyo incondicional.

A mis amigos: Ing. Joel López Osorio e Ing. Carlos Mendoza Matías por su apoyo moral.

Al M.C Manuel Torres Hernández por brindarme su apoyo al llegar a esta Universidad.

A Elia Olivar España que me brindó su apoyo moral, sus consejos, en los momentos que más lo necesité.

DEDICATORIAS

A mis padres

Sr. Miguel Gómez Pérez

Sra. Faustina Gómez García

Que me enseñaron mis primeros pasos en esta vida, a ser un hombre de bien y a trabajar por las cosas que deseo.

A mi Hermano José Luis Gómez Gómez por brindarme su apoyo incondicional y moral.

A mis Hermanos:

Valerio

Micaela

Juan Carlos

Angélica

Gilberto

Francisco

Ivette

Por su apoyo moral.

A la Lic. Adela Isabel Vázquez Castillo que me ha acompañado en este andar.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especies de plantas y partes vegetativas utilizadas para la elaboración de los extractos. Buenavista, Saltillo, Coah.; Méx. Enero. 2011

Cuadro 2. Análisis de varianza para el diseño completamente al azar con arreglo factorial 7 x 4 para estimar el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para los efectos inhibitorios de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* después de 144 hrs de incubación en medio de cultivo.

Cuadro 4. Promedio de cada concentración en cada extracto.

Cuadro 5. Análisis de varianza para *Aspergillus flavus*

Cuadro 6. Distribución de promedios en experimento de inhibición de *Aspergillus flavus*.

Figura 1. Efecto de cinco extractos vegetales y el fungicida Thiabendazol sobre el crecimiento del micelio de *Rhizoctonia solani* en medio de cultivo PDA después de 144 hs de incubación

Figura 2. Efecto de cinco extractos vegetales y el fungicida Thiabendazol sobre el crecimiento del micelio de *Aspergillus flavus* en medio de cultivo PDA después de 144 hs de incubación

RESUMEN

En la actualidad el monocultivo ha incrementado el uso indiscriminado de productos químicos para la producción de alimentos, hoy en día la población demanda productos sanos, libre de pesticidas. La Estimación del Efecto Inhibitorio de *Alternaria solani* Y *Aspergillus flavus* con Cinco Extractos Vegetales, presenta una alternativa como en la producción organica, este estudio se llevó a cabo en el laboratorio Patosistemas Agrícolas del departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, México. Donde se obtuvieron cada concentración de los extractos correspondientes.

Los materiales utilizados en este experimento bajo condiciones *In vitro* que se evaluaron, *Allium sativum* (Ajo), *Larrea tridentata* (Gobernadora), *Syzygium aromaticum* (Clavo), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Cinnamomum zeylannicum* (Canela), Tecto 60 (Tiabendazol), PDA como medio de cultivo, cada una de los extractos fueron a concentraciones de 1, 3, 6 y 9 % , las lecturas a 6 días después de la incubación, los resultados que se obtuvieron como mejores concentraciones son a partir de la segunda concentración comparados con el testigo tecto 60. Se demostró que tres de los extractos obtuvieron los mejores resultados para el control del crecimiento micelial de *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus* y la relación que existe al variar la concentración entre estos.

Palabras claves: *Alternaria solani*, *Aspergillus flavus*, Extractos vegetales.

INTRODUCCIÓN

Desde los años cuarenta, el uso de plaguicidas ha aumentado de una manera continua, llegando a cinco millones de toneladas en 1995 a escala mundial. Se ha establecido que sólo un 0.1 por ciento de la cantidad de plaguicidas aplicado llega a la plaga, mientras que el restante circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente el suelo, agua y la biota; por lo tanto, es necesario conocer el destino final y la toxicidad no prevista de estos plaguicidas para evaluar con certeza el riesgo asociado a su uso (Carvalho *et al*, 1998).

La agricultura moderna (basada en mecanismos modernos, conservación y mejoramiento de sistemas de información, vinculada al sistema capitalista), el monocultivo, ha provocado el uso intensivo e indiscriminado principalmente de pesticidas, fertilizantes químicos y maquinaria, dando como resultado el desarrollo de la resistencia de los patógenos a los agroquímicos sintéticos, es de esta manera que en la actualidad la liberación de la economía y el funcionamiento del campo mediante técnicas modernas nos ha vendado los ojos, hemos impulsado un modelo de crecimiento carente de sustentabilidad, esto conlleva a una mayor contaminación ambiental, productos agrícolas y más problemas de salud para los humanos.

La tendencia de la actividad agrícola mundial, de reducir la dependencia de químicos sintéticos y el tamaño de las áreas dedicadas a la agricultura, sin que esto afecte el volumen y calidad de la producción de alimentos, lo anterior ha impulsado a los investigadores a generar alternativas que permitan hacer más eficiente la producción con menor uso de agroquímicos.

Las actividades agrícolas sustentables que utilizan técnicas y productos amigables con el ambiente, así como los alimentos orgánicos producidos sin pesticidas ni agroquímicos de síntesis resultan en productos sanos para el

consumidor y con grandes beneficios al medio ambiente, antes, durante y después de su producción, es lo que actualmente está siendo demandado en todo el mundo, ya que los sistemas de producción ecológicos y orgánicos, permiten la conservación y mejoramiento de los recursos naturales, tales como agua, suelo, aire, en fin la biodiversidad.

La información que circula en medios electrónicos o impresos para el control de patógenos están enfocados con el uso de pesticidas para su empleo en la producción de cultivos, se enfocan en el tema de agroquímicos sintéticos, los cuales se empezaron a utilizar abundantemente en los años posteriores a la segunda guerra mundial; en muy pocos casos la literatura sobre fitosanidad trata sobre aspectos relacionados con los ingredientes activos de las plantas, así como los extractos y aceites esenciales que de ellas se obtienen para ser empleados como pesticidas orgánicos. Los extractos de plantas con propiedades fungicidas ó fungistáticas, han venido recibiendo una renovada atención en los últimos años debido a las presiones sociales de grupos ambientalistas, de gobiernos de países desarrollados, y más recientemente de organismos no gubernamentales que demandan el uso de productos que promuevan una agricultura sustentable para beneficio de humanos, animales y los ecosistemas, (Lira-Saldívar., 2007).

Existen más de 2 000 especies de plantas con propiedades insecticidas que han sido caracterizadas mundialmente (Grainge and Ahmed, 1988), en México Montes-Belmont *et al*, (2000) señalan que se han probado más de 200 especies de plantas contra la actividad de unas 26 especies de hongos fitopatógenos, tanto en pruebas de laboratorio, invernadero y campo. La formulación de productos vegetales utilizados han sido: extractos acuosos, metanólicos, etanólicos y hexánicos; polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios antifúngicos.

Históricamente los productos de la herbolaria han sido usados mucho antes que cualquier otra clase de pesticidas sintéticos. En la antigüedad los chinos, griegos y romanos usaron extractos de plantas mezclados con azufre y arsénico (NAS, 1969; Tschirley, 1979). En los trópicos de la India, el uso del árbol de neem (*Azadirachta indica*), ha sido reportado en antiguos manuscritos que datan desde hace más de 4,000 años (Larson, 1989).

En los extractos vegetales, las plantas sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios para defenderse del ataque de patógenos y depredadores (Hopkins, 1999). La obtención de extractos vegetales conteniendo estos metabolitos se ha realizado en agua o en otros disolventes dependiendo de su polaridad y en forma de polvos (Bautista-Baños *et al.*, 2002a; Stange *et al.*, 2001; Abou-Jawdah *et al.*, 2002; Bautista-Baños *et al.*, 2003a).

Su actividad antimicrobiana ha sido relacionada con la actividad biológica de los mismos. Si consideramos que los compuestos obtenidos de las plantas en su mayoría son biodegradables e inoocuos y que en México se encuentran aproximadamente el 10% de las especies de plantas superiores del mundo y más del 50% de ellas son habitantes exclusivas de nuestro país (CONABIO, 2006), resultaría muy interesante explorar el potencial de empleo de los extractos vegetales para controlar las enfermedades de postcosecha.

Diversos productos obtenidos de las plantas presentan carácter antimicrobiano, dentro de los principales compuestos derivados de las mismas, destacan los flavonoides, fenoles, terpenos y aceites esenciales, alcaloides y lectinas y polipéptidos. Se conoce que los mecanismos a través de los cuales estos compuestos actúan son variables, por ejemplo, la inhibición enzimática (fenoles), probable rompimiento de la membrana través de compuestos lipofílicos (terpenos y aceites esenciales), intercalación con el DNA (alcaloides) y por último se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar inhibición

competitiva por la adhesión de proteínas microbianas a los receptores (polisacáridos) del hospedero como lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). Sus propiedades fungistáticas o fungicidas varían de acuerdo a la época del año y al órgano de la planta empleado (semilla, raíz, hojas, etc.) (Bautista y Barrera, 2001).

Es importante desarrollar investigaciones que permitan el aislamiento de diferentes compuestos activos presentes en las plantas y valorar de forma individual el potencial que tienen los mismos al ser empleados en el control de diferentes patógenos, los análisis deben tener dos enfoques primordiales, el efecto directo sobre el patógeno y el que causan sobre los vegetales estudiados (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007b). Así mismo, se debe considerar el aprovechamiento controlado de las plantas sin afectar los ecosistemas (Lira-Saldívar, 2003).

Se dispone de un amplio número de especies vegetales con potencial antimicrobiano, las investigaciones desarrolladas son escasas y los resultados obtenidos en algunos casos son promisorios para controlar diversas enfermedades de postcosecha.

Los estudios sobre la tendencia de los extractos para el control de las enfermedades de postcosecha son escasos, considerando que son una alternativa para controlar este problema. Hasta hace pocos años, se ha comenzado a evaluar (*in vitro*) la actividad antifúngica de compuestos activos aislados de diferentes extractos. A partir de *Cestrum nocturnum* (huele de noche), se obtuvieron 16 compuestos acetónicos y dos acuosos, que inhibieron la germinación de las esporas de *Fusarium* spp. provenientes de papaya y ciruela (Portillo-Herrera *et al.*, 2005). Asimismo, estudios *in vitro* realizados con polvos y extractos de guamúchil, mostraron inhibición (50 - 78 %) del crecimiento micelial en *B. cinerea*, dependiendo del órgano de la planta y de la época de cosecha (Bautista-Baños *et al.*, 2003a).

Los fungicidas químicos sintéticos han sido empleados durante mucho tiempo para controlar de forma efectiva las enfermedades postcosecha, se ha comprobado su eficacia y certeza sobre diferentes pudriciones en frutos y vegetales. Sin embargo, últimamente se han realizado diversos estudios que demuestran el efecto residual y nocivo del empleo de estos productos químicos.

Ante esta preocupación generalizada, se ha incursionado en la búsqueda de nuevos fungicidas sintéticos que no sean nocivos para la salud humana y que no causen problemas de contaminación al medio ambiente. De igual forma, diversos grupos de investigación han encaminado sus estudios hacia la valoración de diferentes compuestos naturales, no tóxicos y biodegradables que puedan emplearse para controlar los patógenos, la disyuntiva ha sido, que ninguna de las estrategias empleadas hasta el momento, logra por sí sola suplir la eficacia de los químicos sintéticos.

De acuerdo a datos de la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST), se tienen registrados 125 pesticidas y de ellos 13 son de origen microbiano, los cuales pueden consultarse en la página Web que existe para estos fines (SAGARPA, 2010). (<http://www.sagarpa.gob.mx>.)

Justificación del trabajo

Los extractos vegetales evaluados hasta el momento son escasos, si consideramos la gran diversidad vegetal que existe en el mundo y los estudios previos que evidencian el potencial antimicrobiano de los polvos y extractos obtenidos de las plantas. En este sentido, es importante continuar desarrollando investigaciones que permitan conocer los efectos antifúngicos y posteriormente contribuir a dilucidar su efecto biológico y las posibilidades de su empleo, la riqueza vegetal de que disponemos debe ser utilizada, máxime si tenemos en cuenta la

naturaleza biodegradable y no tóxica de sus compuestos. De esta manera y con relación al empleo de otros compuestos naturales como es el caso del quitosano, debemos aprovechar las ventajas de su inocuidad que han sido demostradas hasta el momento y su capacidad de inducir resistencia en los frutos y de causar un efecto antifúngico directo sobre diversos patógenos de interés.

Es importante que los estudios a desarrollarse comprendan un enfoque multidisciplinario, diferentes especialistas deben unir sus esfuerzos y aportar su conocimiento buscando el fin común. De forma integral, se debe considerar la protección de los productos agrícolas sin dañar al ambiente y a la salud humana, aspectos fundamentales en el desarrollo sustentable de los países que afrontan esta problemática.

Objetivos

Identificar y evaluar el efecto inhibitorio en medio de cultivo de cinco extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de en *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

Hipótesis

Ho: Todos los extractos vegetales tienen capacidad inhibitoria sobre *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

Ha: Al menos un extracto vegetal tiene capacidad estimulante.

REVISION DE LITERATURA

Las plantas han evolucionado simultáneamente con otros organismos, insectos, hongos, bacterias, entre otros, que las parasitan y se alimentan de ellas, por lo que hoy se tiene una relación cercana entre ciertas especies vegetales e insectos. De acuerdo con Pitman y Jorgensen (2002), se estima que en el mundo existen entre 310 000 y 422 000 especies de plantas, encontrándose en los bosques tropicales cerca de 125 000 especies (Mendelsohn y Balick, 1995). Dentro de esta vasta diversidad, existen especies vegetales con propiedades de interés para la investigación y el descubrimiento de nuevos productos. Sin embargo, se calcula que menos del 10 % de las plantas han sido evaluadas en la búsqueda de actividad biológica (Harvey, 2000).

Durante 12 años de investigaciones sobre plantas con propiedades antifúngicas se han evaluado un total de 206 especies de plantas contra la actividad de 26 especies de hongos fitopatógenos, incluyendo pruebas de germinación de esporas, desarrollo micelial, esporulación y pruebas de invernadero y campo. La formulación de productos vegetales utilizados han sido: extractos acuosos y hexánicos, polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios antifúngicos.

Los resultados han indicado que entre 32 y 51% de las plantas evaluadas interactúan con los hongos y la respuesta de los patógenos varía desde la estimulación biológica hasta su total inhibición. Como parte de su metabolismo, las plantas producen una diversidad de compuestos orgánicos, de los cuales la mayoría no parece tener participación directa en su crecimiento y desarrollo. A estos componentes se les conoce como metabolitos secundarios y sus propiedades químicas se han investigado ampliamente desde mediados del siglo XIX. El reconocimiento de las propiedades de los metabolitos secundarios ha conducido a la búsqueda de nuevos fármacos, antibióticos, insecticidas y herbicidas (Croteau *et al.*, 2000). Ejemplos de agroquímicos derivados de productos naturales son los

piretroides sintéticos (Kurihara *et al.*, 1997; Reigart y Roberts, 1999), la azadiractina, la nicotina, la rotenona, la sabadilla y la ryania (Reigart y Roberts, 1999; Buss y Park-Brown, 2002). Por su lado, la industria farmacéutica muestra un éxito notable en el descubrimiento de medicamentos originados a partir de productos naturales, entre otros la aspirina, la digoxina, la morfina, la quinina y el taxol (Heinrich *et al.*, 2004).

Nicotina y otros alcaloides. En el siglo XIX algunos compuestos de origen vegetal fueron identificados y frecuentemente utilizados como repelentes o toxinas, incluyendo alcaloides extraídos de varias plantas relacionadas con el tabaco (*Nicotiana tabacum*, *N. rustica* y *N. glauca*). La nicotina es un alcaloide muy estable que actúa en el sistema cardiaco y nervioso. Solo el isómero de la nicotina natural tiene efectos insecticidas. Su volatilidad lo hace un fumigante excelente cuando es estabilizado como sal, en la forma de sulfato, oleato o estearato, mejorando sus propiedades insecticidas cuando es ingerido (Regnault-Roger *et al.*, 2005). En la actualidad este biocompuesto es utilizado principalmente en mezclas como sulfato en soluciones alcalinas, o con jabones como fumigante o como aerosoles de contacto para su uso en invernaderos (Weinzeirl, 1998).

La anabasina extraída por primera vez de plantas del género *Chenopodiaceae* era vendida en Europa y América bajo el nombre de “Nicotina rusa”. Este es un isómero de la nicotina, por lo cual es más tóxica que la nicotina para el áfido *Aphis rumicis*. Existe otro producto llamado Veratina extraído de *Veratrum album* que también posee una acción insecticida de contacto contra diversos áfidos. Otro insecticida alcaloide derivado de *Ryania* spp (Liliacea) nativa de algunas regiones del Caribe y de la cuenca del Amazonas, el cual es llamado rianodine ha sido comercializado desde mediados del siglo pasado en los EUA. Su principio activo es 20 veces más tóxico a mamíferos que a los insectos y su toxicidad contra el perforador del maíz (*Ostrinia nubilalis*) es similar al DDT.

Rotenona y Rotenoides. La rotenona es un producto natural de un gran interés para ser utilizado en la producción agrícola. Desde mediados del siglo XVII, pobladores de Sudamérica observaron que raíces molidas de algunas plantas leguminosas les permitían capturar peces de agua dulce; en 1848 esos extractos fueron adicionados a compuestos con propiedades insecticidas por primera vez, los cuales habían sido aislados de *Lonchocarpus nicou* una planta del género *Papilionaceae*, que actualmente se le ha dado el nombre comercial de rotenona.

Diversos pesticidas en esta familia fueron usados ampliamente como insecticidas comerciales hasta mediados de la década de 1940. La producción orgánica de cultivos ha mostrado un renovado interés en utilizar la rotenona asociada con piretroides, así como con compuestos conteniendo cobre y/o azufre.

Piretroides. Durante el siglo XIX comenzaron a aparecer los reportes de que pobladores de Europa del este, estaban utilizando insecticidas botánicos obtenidos de flores molidas de diversas especies de *Chrysanthemum*.

Durante las guerras Napoleónicas las formulaciones de esta flor fueron utilizadas contra los piojos (Ware, 1991). Las piretrinas son aisladas de plantas de la familia Asteraceae que se cultivan comercialmente en Japón, Yugoslavia, Kenya, Tanzania y Ecuador. La actividad insecticida de las piretrinas se deben principalmente al compuesto denominado piretrum, término que se aplica a una mezcla de esteroides como piretrina, cinerina y jasmolina. Debido a su baja toxicidad en mamíferos y su rápido efecto de knockout, los piretroides tienen un enorme éxito el cual se ha incrementado por la incorporación de sinérgicos de origen vegetal o de ciertos antioxidantes que reducen su inestabilidad. Estos compuestos naturales alteran la transmisión del sistema nervioso al disminuir y cerrar los canales de Na⁺ de las membranas celulares, afectando así la capacidad de las neuronas.

Consecuentemente los insectos intoxicados muestran una hiperactividad seguida de convulsiones, y posteriormente la muerte (Regnault- Roger *et al.*, 2005).

Azadiractina. A nivel mundial existe un gran interés por redescubrir las propiedades insecticidas y antimicrobianas de los extractos del árbol de neem (*Azadirachta indica*) por los científicos occidentales. Como antes se señaló este es un insecticida que tradicionalmente se ha venido empleando en la India desde tiempo inmemoriales. Desde 1959 el trabajo de Schmitterer ha generado un considerable interés por este árbol de la familia *Meliaceae*. Miles de artículos científicos han sido publicados sobre el neem y varias conferencias internacionales se han organizado entorno a este tema.

El neem se encuentra comercialmente disponible a nivel mundial bajo diferentes marcas comerciales como: Azatin®, Turplex®, Align®, Neemex®, Margosan-o® y muchos más. Los ingredientes activos que le confieren las propiedades insecticidas y antimicrobiales del neem son debido a la alta concentración de fitoquímicos como limonoides y principalmente azaridactina y en menor medida a salanina, nimbin y sus análogos. Esos compuestos tiene diferentes actividades: las salaninas y las nimbinas inhiben el proceso alimenticio de los insectos.

Los pesticidas derivados de esta planta tienen baja persistencia en el ambiente (vida media de 20 horas en el follaje después de ser aplicado), además, se degradan fácilmente por los microorganismos del suelo (vida media de 20 días). Por último, los insecticidas de patente formulados a base de neem, han sido aprobados por la EPA (E.U.) para varios usos y están siendo producidos en forma comercial en algunos países. Existen tres tipos de formulaciones en América Latina: a) semilla o pasta molida, b) aceite formulado, y c) extractos formulados.

Las formulaciones sofisticadas incluyen gránulos, polvos humectables, y concentrados emulsificables, entre otras, donde la adición de adyuvantes como el aceite de ajonjolí, lecitina, y ácido paramino-benzoico-PABA, aumentan su estabilidad e inhibición de la degradación por efectos de los rayos ultravioleta.

La Dihidroazadiractina, un compuesto obtenido por hidrogenación del fragmento hidroxifluran de la azadiractina, actualmente se muestra como un prometedor compuesto estable y persistente en el campo (Tovar, 2000).

Importancia de los extractos vegetales

A lo largo de muchos años las plantas han sido utilizadas en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmetóloga y de construcción. Sin embargo, a pesar no sólo de la gran biodiversidad vegetal existente y de los antecedentes citados y experiencias empíricas sobre las propiedades micocidas o fungicidas en humanos y plantas, pocos estudios se han enfocado a conocer el potencial biofungicida de las plantas en el control de microorganismos. En general las plantas poseen características fungistáticas o fungicidas las cuales varían de acuerdo a la época del año y al órgano de la planta (semilla, raíz, hojas, etc.).

Existen alternativas en la utilización de plantas y sus frutos para la obtención de plaguicidas naturales. De extractos de plantas silvestres se han aislado compuestos del tipo de las oximas y pinolidinas que tienen actividad insecticida a concentración de 10 ppm determinada sobre *Oncopeltus fasciatus*. Así como terpenos, flavonoides metoxilados y cumarinas que tienen actividad fungicida a concentraciones de 50 ppm sobre hongos fitopatogenos como *Alternaria solani*, *Penicillium italicum*, *Trichoderma viride*. En extractos etanolicos y cloroformicos del desierto Sonorense se encontró actividad fungistática y antiaflatoxigenica contra *A. flavus*, *A. parasiticus*, hongos contaminantes de granos y cereales. Actividad

funguicida contra *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*, fitopatógenos que afectan la calidad y productividad de la uva y papa (Vargas –Arispuro).

En México, en los últimos años se ha dado mayor atención a la investigación de extractos vegetales como una alternativa al control químico de enfermedades en plantas de importancia económica compatible con el medio ambiente. Grainge *et al.*, (1985), señala la existencia de aproximadamente 1600 sp de plantas con propiedades pesticidas, de estas, 94 presentan características fungicidas; por su parte Rice (1979), indica que las hojas parecen ser la más consistente fuente de inhibidores, por lo cual muchos investigadores han evaluado a estas. Sharma *et al.*, (1981), menciona que el factor lagrimal de la cebolla roja, representa propiedades inhibitorias sobre *A. flavus*.

Métodos para la elaboración de extractos vegetales

Decocción: Se remojan las hierbas frescas o secas en agua por un día, luego se ponen a hervir a fuego lento por 20 a 30 minutos y se deja enfriar el líquido en la misma olla, estando tapada.

Infusión: En un recipiente colocar 2 libras de plantas más agua hirviendo. Tapar el recipiente y dejar en reposo por 12 a 24 horas para luego filtrar el líquido antes de aplicar.

Zumo: Se obtiene machacando, moliendo o licuando las partes frescas de las plantas, posteriormente se exprime para obtener el jugo o líquido.

Maceración: Se coloca en un recipiente las partes de las plantas, luego se le añade agua fría y se lo deja por espacio de 1 a 2 días, transcurrido este tiempo se filtra y se usa.

Purín fermentado: En un recipiente de cerámica o madera se colocan las plantas frescas con agua y se lo tapa de tal manera que entre aire. Se debe remover diariamente por dos semanas aproximadamente hasta que se oscurezca y cese de espumar, señal de que esta listo para ser usado.

Hidrolatos: En un recipiente se coloca 1 kg de la planta picada, se adicionan 10 litros de agua, se tapa la olla y se coloca al fuego por 30 minutos, luego se deja enfriar sin retirar la tapa y reposar durante 3 días.

Extracto de hierbas en proceso de fermentación: Se toman las partes de la planta que se va a usar y se las deja remojar en agua lluvia por 3 a 4 días. Se han utilizado para tratamiento de semillas los extractos de manzanilla y valeriana y el ajo en enfermedades bacterianas y fungosas.

(http://www.darwinnet.org/docs/guia_contol_organico_plagas.pdf)

Características deseables en una especie vegetal para explorar su potencial biofúngida o bioinsecticida

Es conveniente no utilizar plantas que estén en vías de extinción, difíciles de encontrar. Las características que debe tener la planta biofúngida ideal son:

- Ser perenne.
- Estar ampliamente distribuida y en grandes cantidades en la naturaleza, o bien que se pueda cultivar.
- El órgano aprovechable de la planta debe ser renovable, como hojas, flores o frutos.
- No ser destruida cada vez que se necesite recolectar (evitar el uso de raíces y cortezas).

- Requerir poco espacio, manejo, agua y fertilización.
- No debe tener un alto valor económico.
- Efectiva a bajas dosis. (INIA, 2009)

Ventajas del uso de los extractos naturales

- Por ser biodegradables no producen desequilibrios en el ecosistema, al ser de origen vegetal estos bioinsecticidas provocan un impacto mínimo sobre la fauna benéfica, son efectivos contra enfermedades y no tienen restricciones toxicológicas.
- Son conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su medio.
- La mayoría de los extractos tiene diversos usos, como lo es el caso de aquellos empleados por sus propiedades terapéuticas y efectos repelentes, entre otros.
- Su rápida degradación disminuye el riesgo residual en los alimentos.
- Algunos pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha.
- Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
- Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos. (INIA, 2009).
(http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/inia_divulga/numero14/id14_chirinos_j.pdf)

Descripción de *Alternaria solani*

Agrios (1988), menciona que el patógeno *Alternaria sp* presenta un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados produce conidióforos cortos, simples

y erectos que portan cadenas simples o ramificados de conidios. Los conidios son grandes, alargados y oscuros, o bien multicelulares y en forma de pera, presentan septos tanto transversales como longitudinales.

Walker (1973), dijo que el micelio es tabicado y ramificado, presentando coloraciones oscuras al envejecer. Los conidióforos, relativamente cortos y de color oscuro, aparecen sobre las lesiones más antiguas de los tejidos de la planta huésped, los conidios (de 12 a 20 por 120 a 296 micras) son picudos, muriformes, insertos aisladamente o en cadenas de dos. Se forman a partir de una especie de yema, que aparece en la célula terminal del conidióforo. El hongo se cultiva fácilmente en medios artificiales, produciendo a menudo un abundante pigmento de coloración amarillenta a rojiza que se difunde a través del sustrato. Se ha observado una considerable variación en cuanto a virulencia, desarrollo y esporulación, en cultivos puros procedentes de distintos aislamientos.

Clasificación taxonómica de *Alternaria solani*

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Dothideomycetes

Orden: Pleosporales

Familia: Pleosporaceae

Género: *Alternaria*

Especie: *Alternaria solani*

Importancia económica de *Alternaria solani*

Los daños ocasionados por *Alternaria solani*, dependen de la susceptibilidad de la planta y de las condiciones de humedad del ambiente, algunas veces a llegado a ocasionar pérdidas hasta de un 30%, en condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad es mucho más grave en época de fructificación.

El ataque al follaje puede afectar el rendimiento hasta más de un 50%, en papa almacenada alcanza niveles de hasta 80% de los tubérculos (Ramos, 1991). Algunos reportes indican que en la india, la defoliación asciende desde un 25% hasta un 100% por el tizón temprano, causando pérdidas en rendimiento de un 6 hasta un 40% (CMI, 1995), ocasiona defoliación total si no se controla.

El tizón temprano causado *Alternaria solani*, es después del tizón tardío, la enfermedad foliar fungosa más importante del cultivo de papa, se presenta con mayor incidencia en las zonas paperas ubicadas en regiones húmedas y cálidas de países. Las pérdidas se estiman entre 10 a 50% de los rendimientos (Martin y Thurston, 1989). En el cultivo de tomate es una de las enfermedades más importantes, debido a que puede afectarlo en cualquier etapa de su desarrollo y es capaz de infectar cualquier órgano aéreo de la planta, desde la base del tallo, pecíolos, hojas, flores y frutos; además se encuentra bien establecida que su presencia y peligro potencial se puede manifestar prácticamente durante casi todo el ciclo vegetativo. (<http://www.funprover.org/formatos/manualTomate/Manejo%20de%20Enfermedades%20del%20Tomate.pdf>).

Distribución geográfica

Alternaria solani se encuentra muy extendido en los trópicos y zonas templadas (CMI, 1975). En la Republica Mexicana, se ha encontrado en Morelos,

Sinaloa, Michoacán, Guanajuato, Estado de México, Coahuila, Nuevo León y otras pequeñas áreas donde se cultivan tomate y papa.

Síntomas de la enfermedad

Manchas foliares.- Manchas necróticas de 1 a 2 mm de diámetro que se presentan en las hojas basales a partir de los 45 días después de la siembra. A medida que desarrolla la enfermedad, las manchas se rodean de un halo clorótico y forman lesiones necróticas con anillos concéntricos de color marrón claro en todo el área foliar. La mancha puede llegar a medir aproximadamente hasta 2 cm de diámetro, pero su crecimiento está restringido por las nervaduras de los folíolos.

Las manchas se unen y forman áreas muy grandes que abarcan gran parte de los folíolos. Cuando esto ocurre, se produce defoliación y muerte temprana de la planta. El tamaño de las manchas varía de acuerdo al período vegetativo de la variedad de papa; las manchas son grandes en variedades de papa precoces y son pequeñas en variedades de papas tardías.

Lesiones necróticas en tallos.- Los tallos afectados muestran lesiones necróticas de 0.5 a 1.5 cm de diámetro observables con mayor claridad en los cultivares susceptibles.

Lesiones necróticas en tubérculos.- Los tubérculos afectados muestran lesiones ligeramente hundidas, circulares o de forma irregular. Estas lesiones son oscuras con bordes de un tenue color morado que pueden incrementarse en condiciones de almacén (Weingartner 1981).

Ciclo de la Enfermedad

El hongo permanece en residuos de tejidos de hojas infectadas que se encuentran en el suelo, en tubérculos infectados y en otras solanáceas hospedantes. Los conidios del hongo germinan e ingresan directamente a las hojas de la planta a través de la epidermis, la infección se inicia en las hojas del tercio inferior de la planta y ocurre (Torres *et al.*, CIP), a partir de los 45 días después de la siembra. En el campo, a veces se presenta sólo en la etapa de senescencia. Los tubérculos en desarrollo son susceptibles pero los tubérculos maduros son resistentes. El hongo ingresa a los tubérculos, generalmente a través de las heridas y aberturas naturales.

Epidemiología

El desarrollo máximo del micelio de *Alternaria* se produce a la temperatura de 27°C, mientras que los conidióforos y conidios requieren de una temperatura óptima entre 19 a 23° C para su desarrollo. En el medio de cultivo, los conidios se desarrollan cuando están bajo una luz constante, pero la mayor esporulación ocurre cuando las colonias del hongo son expuestas a 18°C, alternadamente en un ambiente con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, durante 12 días. Debido a esta alternancia de luz, se forman anillos en las colonias desarrolladas, similares a los anillos característicos que se producen en las manchas de las hojas infectadas en el campo (<http://www.cipotato.org/training/Materials/HTorres/HTorresTTem.pdf>)

Control

Una de las medidas más importantes es la rotación de cultivos, pero debido a la diseminación natural de los conidios por el viento únicamente puede conseguirse un retraso en la aparición de la enfermedad (Walker, 1973).

El uso de las variedades resistentes y la utilización de semilla sana de alta calidad, desinfectar con calor o fumigar el suelo de los almácigos, y no trasplantar plántulas enfermas. En campo se debe efectuar una rotación de cultivos al menos tres años.

Se recomienda hacer aspersiones de clorotalonil, anilazina, captan, captafol, maneb, zineb, mancozeb y hidróxido de fentina. Las aplicaciones deben iniciarse antes de la floración y repetirse cada semana si las condiciones son favorables. (De la Garza 1996; Agrios 1988), y deben destruirse todos los residuos de cosecha, pues el hongo puede invernar en dichos restos (Urquijo, 1971).

Descripción de *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus es un patógeno oportunista de los cultivos agrícolas, especialmente los que contienen aceite cultivos como el maíz, maní y semilla de algodón.

El hongo *A. flavus* es un hongo que contamina semillas y esquilmos agrícolas o bien se presenta bajo condiciones de almacén transportados por insectos, puede desarrollarse como parásitos de residuos de cosecha. El hongo permanece en el ambiente, esto permite que cuando el maíz está en etapa de floración fácilmente contamina las flores, también contamina las flores del algodón y nogal. Requiere condiciones favorables de temperatura y humedad relativa de 65 – 90 % (Diener *et al.*, 1987; De la Garza, 1996).

Moreno (1988), mencionó que la especies de este grupo requieren para crecer humedad relativas de 80 – 85 % (actividad de agua 0.80 –0.85), en cereales con contenidos de humedad de 16.5 – 18.0%, y en cacahuete de 8.0 – 10.5 %. Su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos.

Clasificación taxonómica de *Aspergillus flavus*

Con base en el trabajo de Alexopoulos y Mims (1979), ellos clasifican a *A. flavus* en la siguiente Ubicación Taxonómica.

Reino..... Mycetae
División..... Amastigomycota
Subdivisión..... Deuteromycotina
Clase..... Deuteromycetes
Subclase..... Hiphomycetidae
Orden..... Moniliales
Familia..... Moniliaceae
Genero..... Aspergillus
Especie..... *Aspergillus flavus* Link

Epidemiología

El hongo *A. flavus* es un hongo que contamina las semillas y esquilmos agrícolas o bien se presenta bajo condiciones de almacén transportados por insectos, puede desarrollarse como parásitos de residuos de cosecha. El hongo permanece en el ambiente, esto permite que cuando el maíz está en etapa de floración fácilmente contamina flores, también contamina las flores de algodón y nogal. Requiere condiciones favorables de temperatura y humedad relativa de 65-90 % (Diener *et al.*, 1987; De la Garza, 1996).

Moreno (1988), mencionó que las especies de este grupo requieren para crecer de 80 - 85 % de humedad relativa (actividad de agua 0.8 – 0.85), en cereales con contenidos de humedad de 16.5 – 18.0 %, y en cacahuate de 8.0 – 10.5 %. Su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos.

Control

Los daños por *A. flavus* pueden reducirse mediante el manejo cuidadoso del producto durante la cosecha, si se evitan heridas que propician la infección. Los granos han de almacenarse con un contenido de humedad tan bajo como 13%. Por otra parte se ha observado que ciertos fungicidas, como maneb, ferbam y tecto-60 controlan eficazmente el ataque de *A. flavus* (Romero, 1988).

MATERIALES Y METODOS

Localización del estudio

El estudio de investigación realizado se llevó a cabo en el Laboratorio de Patosistemas Agrícolas del departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila; México., sus coordenadas geográficas son 25° 21´ de latitud norte y 101° de longitud oeste, con una altitud de 1973 msnm, donde se obtuvieron cada concentración de los extractos correspondientes.

Materiales biológicos

Las especies objeto de estudio fueron *Allium sativum* (Ajo), *Larrea tridentata* (Seesé y Moc. Ex D.C.) Coville (Gobernadora), *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. y L.M. Perry (Clavo), *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Canela), *Rosmarinus officinalis* (Romero), El fungicida Tecto 60 (Tiabendazole) se incluyó como testigo¹ y el medio de cultivo PDA como testigo 2. Estas especies de plantas que se utilizaron para la elaboración de los extractos se determinaron con base a antecedentes bibliográficos sobre inhibición sobre otros patógenos (Almanza-pecina, 2004).

Cuadro 1. Especies de plantas y partes vegetativas utilizadas para la elaboración de los extractos. Buenavista, Enero. 2011

Nombre científico	Nombre común	Parte vegetativa usada
<i>Allium sativum</i>	Ajo	Bulbos
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Canela	Corteza
<i>Syzygium aromaticum</i>	Clavo	Botón floral
<i>Larrea tridentata</i>	Gobernadora	Hojas
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero	Hojas
Tiabendazole (Testigo 1)	Tecto 60	i.a
PDA (Testigo 2)		

Descripción de las especies utilizadas para la obtención de los extractos

Rosmarinus officinalis (romero)

Las hojas de esta especie fueron obtenidos en el mercado local de la ciudad de Saltillo, Coahuila.

Clasificación Taxonómica de *Rosmarinus officinalis*

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Tribu: Mentheae

Género: *Rosmarinus*

Especie: *Rosmarinus officinalis*

Nombres comunes: Romero, romero de llano, romerillo.

El romero, es una especie del género *Rosmarinus* cuyo hábitat natural es la región mediterránea del sur de Europa, norte de África y también en Asia Menor. Es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, puede llegar a medir 2 metros de altura. Las hojas pequeñas y muy ramificadas, presentan forma linear. Son opuestas, sésiles, enteras, con los bordes hace abajo y de un color verde oscuro, mientras que por envés presentan un color blanquecino y están cubiertas de vello. En la zona de unión de la hoja con el tallo nacen los ramilletes floríferos.

Componentes químicos

De acuerdo a los efectos medicinales buscados, varía la forma en que deben ser ingeridos, ya que el ajo posee diferentes propiedades crudo o cocido. Cuando el ajo crudo es cortado o machacado, se produce la combinación de la alina con la alinasa, lo que produce una sustancia denominada alicina. Ésta tiene varios efectos benéficos, en cambio si el ajo es cocinado, este compuesto se destruye. En el proceso de cocción se liberan compuestos diferentes, como la adenosina y el ajoeno, que poseen cualidades anticoagulantes y se supone que reduce el nivel de colesterol.

La alicina tiene como principal compuesto el sulfuro de hidrógeno el cual facilita la presión sanguínea, favoreciendo la circulación y el transporte de oxígeno. (http://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus_officinalis)

Usos

En la edad media este arbusto fue reverenciado, al utilizarse para fumigar las habitaciones de los enfermos y las salas de los hospitales, dado su gran poder antiséptico. Esta práctica se llevó a cabo hasta nuestra época.

(<http://www.matiasongonzalez.com/productos/aromaterapia/104-romero.pdf>)

Larrea tridentata (Gobernadora)

Las plantas utilizadas fueron obtenidas de aéreas cercanas a la UAAAN.

Clasificación taxonómica de *Larrea tridentata* (Gobernadora)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Zygophyllales

Familia: Zygophyllaceae

Género: Larrea

Especie: *Larrea tridentata*

Nombres comunes: Gobernadora (Estados del norte de México); Guamis, Hediondilla, Huamis, Háaxat, Jarilla (Rep. Mex.). Nombre en Inglés: Creosote bush, greasewood.

La gobernadora es una de las especies más importantes en la vegetación de los desiertos mexicanos. Pero, también habita sitios perturbados y muchos potreros de estas zonas áridas. Su hábito y forma de vida son un arbusto siempre verde, aromático con olor a creosote (especialmente cuando húmedo), llega a alcanzar una altura de hasta 4 m. Su tallo es muy ramificado desde cerca de la base (sin un tronco bien definido).

Sus hojas son opuestas, cortamente pecioladas a casi sésiles, compuestas de 2 hojitas (llamadas foliolos) asimétricas unidas entre sí hacia la base, puntiagudas, correosas, lustrosas, de color verde oscuro a verde-amarillento, resinosas, de hasta 1 cm de largo, con pelillos. Flores solitarias de alrededor de 2.5 cm de diámetro; sépalos 5, desiguales, de 5 a 8 mm de largo.

Composición química

Constituyentes fitoquímicos. Los compuestos en la resina de *L. tridentata* que han sido reportados en la literatura por un lado destacan por su mayor contenido en base al peso seco del follaje los lignanos fenólicos, seguidos por las saponinas, flavonoides, aminoácidos y minerales. El compuesto más importante que se encuentra en la resina de las células es el ácido nordihidroguaiarético (NDGA). Químicamente se le ha descrito como beta, gamadimetil-alfa, delta-bis (3,4-dihidroxifenil) butano, se ha determinado que este ácido tiene propiedades como antioxidante, antiinflamatorio, citotóxica, antimicrobial e inhibidor de enzimas (Mabry *et al.*, 1977; Fernández, 1979; Brinker, 1993).

Propiedades antifúngicas *in vitro* de *L. tridentata*. Uno de los primeros trabajos sobre el efecto fungicida y/o fungistático de la resina de gobernadora reporta que al utilizar extractos crudos de cloroformo y etanol los hongos *Rhizoctonia solani*; *Pythium* sp. y *Rhizopus nigricans* fueron controlados *in vitro*, tanto con el extracto metanólico como con el clorofórmico; no fue el caso de *Fusarium oxysporum*, ya que con 1000 ppm de cada extracto, este hongo solamente se logró controlar en un 76 y 93%, respectivamente (Fernández *et al.*, 1979).

Los resultados obtenidos por Velásquez (1981), indican que el extracto de gobernadora que mejor efecto manifestó en estudios *in vitro* fue la fracción etanólica a dosis de 2,000 ppm.

Uso y toxicidad

La Creosota Bush (designado chaparral cuando está utilizando como un remedio herbario) es ampliamente utilizada como un suplemento herbario y fue utilizada por los nativos americanos en el suroeste como una protección solar eficaz y antioxidante potente para el tratamiento del envenenamiento de la sangre y de las enfermedades hepáticas.

Los estudios clínicos de los compuestos en esta planta han verificado ambos la eficacia de las plantas en tratar estos desordenes, así como su toxicidad a las células de hígado humanas. (http://es.wikipedia.org/wiki/Larrea_tridentata)

Hábitat

La gobernadora vive en las zonas áridas de México y suroeste de los Estados Unidos, las áreas del semidesierto representan un gran potencial, guardan una riqueza basada en su especialización biológica, Un caso típico de estas condiciones lo representa la gobernadora *Larrea tridentata* de la familia *Zygophyllaceae*. Esta especie perenne es la mas más ampliamente distribuida en las zonas áridas de los desiertos Chihuahuense, Sonorense y Mojave (Barbour, 1969).

Distribución geográfica de la gobernadora. *L. tridentata* domina aproximadamente 17.5 millones de hectáreas desde el oeste de Texas hasta el sur de California en los Estados Unidos (Duisberg, 1952).

Cinnamomum zeylannicum (Canela)

Clasificación Taxonómica de *Cinnamomum zeylanicum*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurale

Familia: Lauraceae

Género: Cinnamomum

Especie: *Cinnamomum zeylanicum*

Nombres comunes: Cinamomo, Árbol de la canela, Canelero de Ceilán, Canelo, Canelera, Centriun.

Es originaria de Ceilán (Sri Lanka). El árbol de la canela es un pequeño árbol o arbusto perennifolio con corteza papirácea. Puede alcanzar 10 m de altura en su estado silvestre, pero se poda en árboles más pequeños y densos para facilitar su cultivo. Las hojas son perennes, casi opuestas, con 3 venas prominentes, simples, coriáceas, largas y aromáticas. Flores en panículas, hermafroditas, muy inconspicuas.

La especia es la corteza interna que se extrae pelando y frotando las ramas y que una vez desprendida, es a su vez separada y vuelta a pelar.

Componentes químicos

El aceite esencial que contiene es hasta un 4% en la corteza. Este aceite consiste en cinamaldehído, cinamil, cuminaldehído, eugenol en cantidades variables. El aceite de las hojas contiene una cantidad mayor de eugenol (hasta un 80%). Los taninos que consisten en tetrahidroxi flavandioles poliméricos. Cinzelanina, cinzelanol y fenol que inhibe las bacterias responsables de la putrefacción de la carne.

Usos

En la cocina se emplea fundamentalmente en postres (arroz con leche, natillas etc.) y acompañando a frutas en los rellenos de carnes y aves. Las bebidas calientes como el chocolate y el café están deliciosas con su complemento. (http://es.wikipedia.org/wiki/Cinnamomum_verum)

Syzygium aromaticum (Clavo)

Clasificación Taxonómica de *Syzygium aromaticum*

Reino: Plantae

División: Angiospermas

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Subfamilia: Myrtoideae

Tribu: Syzygieae

Género: *Syzygium*

Especie: *Syzygium aromaticum*

Nombres comunes: Castellano; Clavo, Clavo de olor, Clavo aromático, Clavo de especias.

Es originario de las islas Banda, china. El árbol de clavo o clavero es un árbol perenne que llega a medir hasta 20 m de altura, aunque habitualmente, cuando es cultivado no supera los 10 m, su tallo es erecto, de corteza gris. Destacan sus hojas de hasta 12 cm de longitud, puntiagudas, ovaladas, oval-lanceolado, simples, muy aromáticos, verdes lustrosas y coriáceas, semejantes a las del Laurel.

Composición química

Eugenol comprende 72-90% de los aceites esenciales extraídos de clavo de olor, y es el compuesto más responsable del aroma del clavo. Otros componentes importantes incluyen acetil eugenol, beta- cariofileno y vainillina, ácido crategolic, taninos, ácido gallotannic, salicilato de metilo (analgésico), el flavonoides eugenin, kaempferol, rhamnetin y eugenitin; tri terpenoides como el ácido oleanólico, estigmasterol y campesterol.

Usos

Se pueden utilizar en la cocina ya sea enteros o molido, los dientes han sido históricamente utilizados en la cocina india (tanto del norte de India y sur de la India). El aceite de clavo es un magnífico remedio natural contra el dolor de muelas e igualmente, para aliviar la inflamación del oído, llagas, úlceras dérmicas y para limpiar las heridas y favorecer su cicatrización, en la actualidad como una de los principales recursos naturales para combatir enfermedades infecciosas como la malaria, la tuberculosis o el cólera. Otras enfermedades de la piel producidas por hongos o por heridas son tratadas con esta especia. (http://es.wikipedia.org/wiki/Syzygium_aromaticum)

Allium sativum (Ajo)

Clasificación Taxonómica de *Allium sativum*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *Allium sativum*

Las partes de las plantas utilizadas fueron los gajos del bulbo comúnmente llamados dientes y fueron obtenidas en el mercado local de la ciudad de Saltillo, Coahuila.

Nombres comunes: Castellano; aja, ajo, ajo andaluz, ajo blanco, ajo castañuelo, ajo castellano, ajo común, hortense que se come, ajo diego, ajo sanjuanero, ajo silvestre, ajos porros, rocambola. Nombre en inglés: Garlic.

El ajo es una planta perenne, las hojas son planas y delgadas, de hasta 30 cm de longitud, las raíces alcanzan fácilmente profundidades de 50 cm o más, el bulbo, de piel blanca, forma una cabeza dividida en gajos comúnmente llamados dientes, cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes.

En la actualidad, el ajo es una medicina naturista y tiene una amplia utilidad farmacológica. Es eficaz como antibiótico, combatiendo numerosos hongos, bacterias y virus.

Componentes químicos

De acuerdo a los efectos medicinales buscados, varía la forma en que deben ser ingeridos, ya que el ajo posee diferentes propiedades crudo o cocido. Cuando el ajo crudo es cortado o machacado, se produce la combinación de la alina con la alinasa, lo que produce una sustancia denominada alicina.

Ésta tiene varios efectos benéficos, en cambio si el ajo es cocinado, este compuesto se destruye. En el proceso de cocción se liberan compuestos diferentes, como la adenosina y el ajoeno, que poseen cualidades anticoagulantes y se supone que reduce el nivel de colesterol.

La alicina tiene como principal compuesto el sulfuro de hidrógeno el cual facilita la presión sanguínea, favoreciendo la circulación y el transporte de oxígeno. (http://es.wikipedia.org/wiki/Allium_sativum)

Obtención de la cepa del hongo utilizada

La cepa del hongo *Alternaria solani* fue obtenida de hojas de plantas de tomate cultivadas en invernadero con síntomas de la enfermedad y la cepa de *Aspergillus flavus* se aisló de granos de maíz con síntomas de pudrición de la mazorca. En ambos casos estos aislamientos se subcultivaron e identificaron como *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus* mediante las claves de identificación de hongos imperfectos (Barnett, 1969)

Procedimiento experimental

Trabajo en laboratorio

Preparación de extractos

Obtenidas las especies vegetales de estudio, se procedió a lavarlas con agua común para evitar ser contaminadas con cualquier material extraño a estos, como la tierra y polvo que pudieran traer consigo. Así mismo, se separaron cada planta según la parte de interés (tallo, hoja, bulbo etc.) antes de ser procesadas, posteriormente se lavaron con agua destilada de acuerdo a Montes y Peralta (1993) y López *et al.* (2005), se secaron a la sombra. Se deshidrataron colocándolas en una incubadora de convección por gravedad (Precision Scientific Modelo J1755-1A), a una temperatura de $60 \pm 2^\circ \text{C}$ hasta obtener su peso constante. Posteriormente se licuaron con una licuadora (Osterizer Modelo 465-43 m. 440 Watts), hasta obtener un polvo fino que se pasó por una malla (Alsa) del número 20 con orificios de 0.84 mm de diámetro.

Los extractos se prepararon en concentraciones de 1, 3, 6 y 9 %, para lo cual se pesaron cantidades de 1, 3, 6 y 9 gramos de polvo de cada especie y se colocaron en vasos de precipitado Pyrex de 250 ml de capacidad, conteniendo el primero 99 ml de agua desionizada y 1 g de polvo para la solución al 1 % y 97 ml de agua desionizada más 3 g de polvo para la solución de 3%, 6 g de polvo más 94 ml de agua desionizada para la concentración de 6% y finalmente 9 g de polvo con 91 ml de agua desionizada para el 9%, se agitaron por 15 min. En un agitador de laboratorio de plato caliente (Corning modelo PC-620) y se dejaron luego en refrigeración a una temperatura de $4 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 hrs., con la finalidad de extraer al máximo el ingrediente activo de cada especie de extracto.

Cada extracto se pasó por el papel filtro Watman WL No 1 para eliminar residuos de ejido vegetal que pasaron a través de la malla utilizada. Estas soluciones así obtenidas, fueron utilizadas para preparar con ellas los medios de cultivo donde se sembró el hongo para evaluar su crecimiento. Se incluyó como testigo 1 al fungicida Tecto 60 en dosis de 0.5 g (0.3 g de i .a) de producto comercial por litro de agua, y como testigo 2 solo en el medio de cultivo PDA sin extracto ni fungicida (Almanza-pecina, 2004).

Obtenidos los extractos en sus respectivas concentraciones, en un matraz se tomaron 80 ml en cada uno para disolver 3.0 g de PDA, seguido de la esterilización en autoclave a 15 libras de presión durante 15 min a una temperatura de 120° C y enfriados a 45° C aproximadamente para preparar 5 cajas Petri con 15 ml de cada uno de los medios de cultivo más extracto.

Una vez preparadas las cajas Petri con el medio de cultivo más extracto, se sembró un disco de 4 mm de diámetro del cultivo de *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus* en el centro de cada una de ellas, por cada una de las cuatro concentraciones de los extractos, con cinco repeticiones y se dejaron incubar a $28 \pm 1^{\circ}$ C.

Fungicida Tecto 60 (Tiabendazol)

El Tecto 60 es un fungicida agrícola de contacto y sistémico. Es altamente efectivo contra un amplio rango de hongos fitopatógenos entre los que se encuentran *Alternaría solani* y *Aspergillus flavus* controla enfermedades de plantas con una acción preventiva y curativa, puede aplicarse como aspersion foliar antes de la cosecha o en tratamientos post-cosecha. Su ingrediente activo es Tiabendazol (Merck Sharp and Dohme Internacional, 1986).

El criterio de evaluación para determinar el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre los hongos *Alternaría solani* y *Aspergillus flavus* fue, el crecimiento

micelial a las 144 hrs después de la siembra con respecto a los testigo 1 (fungicida Tecto 60) y 2 testigo 2 (PDA sin extracto ni fungicida) transformado a porcentaje.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño Completamente al Azar con Arreglo Factorial, donde el factor A fue extractos y el factor B la concentración. La prueba de medias fue la de Tukey al 0.05. El experimento tuvo en un total de 28 tratamientos, con cinco repeticiones, se considera a cada caja Petri como una repetición.

Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde: i = Extractos

j = Concentración

k = Repeticiones

Análisis de Varianza

Cuadro 2. Análisis de varianza para el diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 7 x 4 para estimar el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

F. V.	G. L.
Repeticiones	$(r-1)$
Extracto (A)	$(A-1)$
Concentración (B)	$(B-1)$
A*B	$(A-1)(B-1)$
Error	$(A-1)(B-1)(r-1)$
Total	$(ABr-1)$

RESULTADOS Y DISCUSION

El crecimiento del micelio de *Alternaria solani* en el medio de cultivo PDA (testigo 2), se consideró como 100 %, respecto del cual se calculó el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre *Alternaria solani*. El cuadro 3 presenta los cuadrados medios del análisis de varianza para el efecto inhibitorio de los extractos utilizados, el testigo fungicida (testigo 1) y el testigo PDA sobre *Alternaria solani*. Se observan diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) entre los extractos, entre concentraciones y para la interacción extracto por concentración. Esto sugiere diferentes efectos inhibitorios de los extractos sobre el crecimiento micelial del hongo, la interacción altamente significativa ($p \leq 0.01$) entre extractos y concentraciones indica que a medida que varía la concentración de los extractos el efecto inhibitorio de estos sobre el crecimiento del hongo también varía.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para los efectos inhibitorios de cinco extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* después de 144 hrs de incubación en medio de cultivo.

F.V	GL	S.C.	C.M.	F
Rep.	4	993	248.2	3.15 **
Extracto (A)	6	145146.5	24191	306.6 **
Concentración (B)	3	16809.1	5603	71 **
A*B	18	38195.94	2121.9	26.9 **
Error	108	8520.5	78.89	
Total	139	209665.2		

CV 13% ** Valores altamente significativos

El efecto demostrado por gobernadora (cuadro 4) fue estadísticamente superior al resto de los extractos ($p \leq 0.01$), lo cual se puede comparar con trabajos donde tal efecto se demostró por la gobernadora (Lara *et al.*, 1997) en frijol Canario 107 en suelo contaminado previamente con *Alternaria solani* y tratado con una concentración al 2 % p/p donde se observó la muerte preemergente más alta (80 a

100%) en los tratamientos inoculados con el patógeno, excepto en aquellos adicionados con gobernadora donde el porcentaje de germinación fue de 100%. Este efecto inhibitorio de *Alternaria solani* por gobernadora (López *et al.*, 2005) señaló un fuerte efecto inhibitorio del extracto de gobernadora sobre *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Verticillium*

Cuadro 4. Efecto inhibitorio promedio de cinco extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Alternaria solani* en medio de cultivo PDA.

Extractos	% de Concentración				Extractos
	1	3	6	9	
1. Ajo	0.4	38.2	50	100	47.15 D
2. Canela	36	51	85	100	68 C
3. Clavo	55	100	100	100	88.75 B
4. Gobernadora	89	100	100	100	97.25 A
5. Romero	75.6	72.8	84.4	71.2	76 C
6. Fungicida	84.2	84.2	84.2	68.8	80.35 B
7. Testigo PDA	0	0	0	0	0.0 E
Concentraciones las	48.6 C	63.7 B	71.9 A	77.1 A	

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes al 0.01

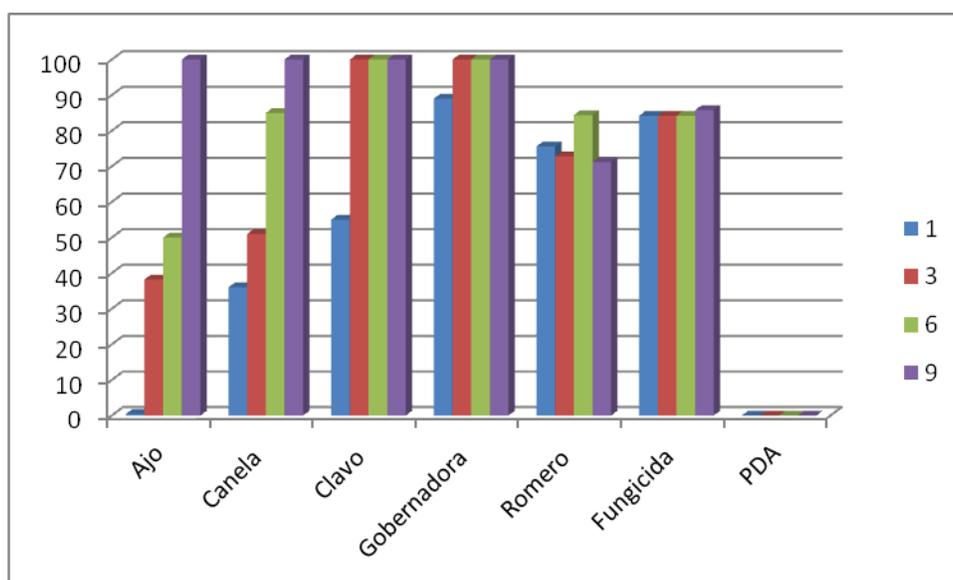
El extracto de clavo y el testigo 1 (Tiabendazole) fueron estadísticamente iguales (cuadro 4) para este último según (Merck Sharp and Dohme Internacional. 1986) inhibe el crecimiento micelial de *Alternaria solani* al 100 % en campo, contrario a lo que se esperaba no inhibió por completo el crecimiento micelial en este experimento, en este sentido la evaluación *in vitro* pudo haber sido afectado por alguna variación genética del hongo, mientras que el extracto de clavo inhibió por completo a partir de la segunda concentración (3%), (López *et al.* 2005) demostraron la inhibición por completo en crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *verticillium dahliae* Kleb después de 72 h de incubación en dos concentraciones y después de 144 h se mantuvo el efecto en *Rhizoctonia solani*, este mismo efecto antifúngico del extracto de clavo fue observado en especies de hongos como

Botrytis cinérea Pers (Antonov *et al* 1997; Wilson *et al.*, 1997), *Aspergillus flavus* (Montes-Belmont, 1997)

Los extractos de canela y romero fueron estadísticamente iguales, el primero de estos tuvo un mejor comportamiento a medida que aumenta la concentración (Viveros-Folleco J.,Castaño-Zapata J. 2006) mencionan el crecimiento inhibitorio de *Mycosphaerella fijiensis* al 25, 50, 75 y 100 % de concentración siendo acentuado en la tercera y cuarta concentración, caso contrario en romero lo cual se mantuvo casi constate.

La Figura 1 muestra que los extractos de ajo y canela incrementaron su efecto inhibitorio al incrementar su concentración de 3 al 9 % observándose que al 1 % el efecto de la concentración del ajo fue prácticamente nulo. Es de notarse que el efecto inhibitor del fungicida fue superado significativamente por los extractos de clavo, gobernadora en sus cuatro concentraciones.

Figura 1. Efecto de cinco extractos vegetales y el fungicida Thiabendazol sobre el crecimiento del micelio de *Rhizoctonia solani* en medio de cultivo PDA después de 144 hs de incubación



Respecto a la inhibición de estos extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* en medio de cultivo PDA, se consideró también el crecimiento del micelio del hongo en el medio de cultivo PDA (testigo 2) como 100 %, respecto del cual se calculó el efecto inhibitorio de los extractos vegetales sobre *Aspergillus flavus* de la misma manera que para *Alternaria solani*. El efecto inhibitorio de testigo fungicida, al igual que el que mostró sobre *Alternaria solani*, tampoco lo inhibió por completo.

El cuadro 5 presenta los cuadrados medios del análisis de varianza para el efecto inhibitorio de los extractos utilizados, del testigo fungicida (testigo 1) y del testigo PDA (testigo 2) sobre el crecimiento del micelio de *Aspergillus flavus* en medio de cultivo PDA. Se observan diferencias altamente significativas entre los extractos y para la interacción extracto por concentración ($p \leq 0.01$) pero no para las concentraciones (cuadro 6). Aquí se observa que para este hongo, fue más importante el efecto inhibitorio de los diferentes extractos que la concentración de estos.

Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza para los efectos inhibitorios de cinco extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* después de 144 hrs de incubación en medio de cultivo.

F.V	GL	S.C.	C.M.	F
Rep.	4	1170.69	292.6	0.92 NS
Extracto (A)	6	112514	18752.36	59.1 **
Concentración (B)	3	1281	427.3	1.3 NS
A*B	18	30043	1669	5.2 **
Error	108	34230.9	316.9	
Total	139	179241		

CV 37% ** Valores altamente significativos

La interacción extractos por concentración (cuadro 3), su respuesta presenta mayor o menor inhibición al variar la concentración, teniendo como resultado un efecto notable entre estos, debido a que no todos los extractos tienen un poder inhibitorio

en la misma concentración sino que su poder inhibitorio en algunos casos es mejor al aumentar de dosis. Como la comparación de testigo 1 su poder inhibitorio es casi constante mientras que gobernadora desde la primera concentración tiene un efecto notable siendo mayor en el resto de las concentraciones, caso contrario al ajo donde su crecimiento es gradual.

Cuadro 6. Efecto inhibitorio promedio de cinco extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* en medio de cultivo PDA.

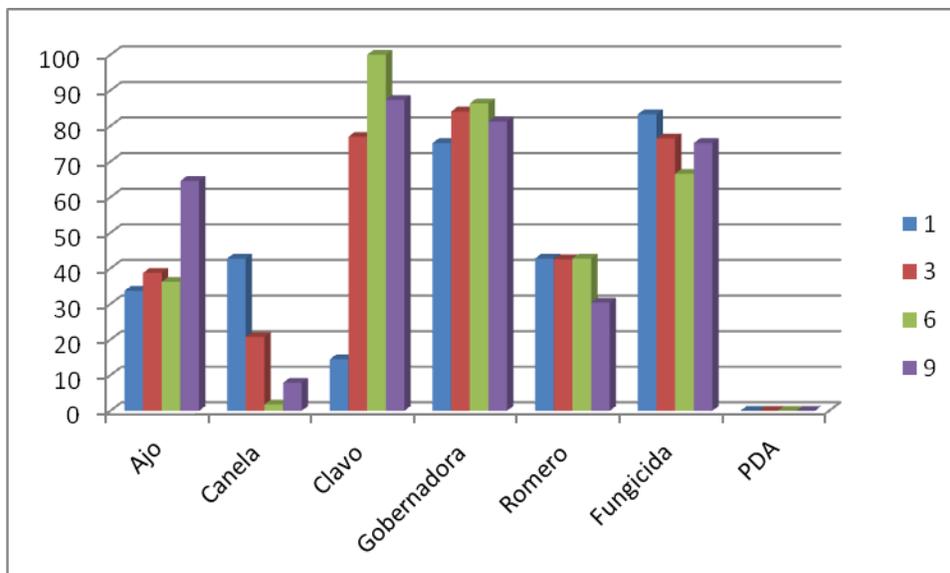
Extracto	% de Concentración				Extractos
	1	3	6	9	
Ajo	33.67	38.73	36.2	64.56	43.0 B
Canela	42.78	20.75	1.77	7.85	18.0 C
Clavo	14.43	76.96	100	87.34	69.6 A
Gobernadora	75.19	84.05	86.33	81.27	81.7 A
Romero	42.78	42.53	42.78	30.38	39.6 B
Fungicida	83.29	76.46	66.58	75.19	75.0 A
Testigo PDA	0	0	0	0	0.0 D
Concentraciones	41.7 A	48.5 A	47.6 A	49.5 A	

El mayor efecto inhibitorio se observó en el extracto de gobernadora, que aunque superó al fungicida, junto con el extracto de clavo resultaron estadísticamente igual al ($p \leq 0.01$) de significancia. (Merck Sharp and Dohme Internacional. 1986) fabricante del fungicida utilizado como testigo, en su catalogo de hongos controlados por el Fungicida Tecto 60 (Tiabendazol) indica que es efectivo para controlar en campo tanto a *Alternaria solani* como a *Aspergillus flavus*, sin embargo el efecto inhibitorio de este producto en medio de cultivo a la dosis recomendada sobre estos patógenos no mostró inhibición completa del desarrollo del micelio. Es probable que a la fecha existan variantes de estos hongos que ya hayan desarrollado algún grado de resistencia al fungicida. Vargas-Arispuro *et al.*, (1997) señalan que para hongos de almacén productores de aflatoxinas, como es el caso de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* encontraron que el extracto de gobernadora tuvo los mejores resultados a 500 ppm ya que inhibió el 92 y 86 %

respectivamente el crecimiento de estos hongos. El extracto de clavo demostró tener el mismo poder inhibitorio al ser estadísticamente igual a los mencionados, (López *et al.*, 2005) señala que a la concentración de 10% de concentración inhibe al 100 % a *Verticillium*, *Fusarium* y *Alternaria* a las 72 h manteniéndose hasta las 144 h de incubación.

La figura 2. Muestra un efecto inhibitorio de los extractos sobre el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus* más heterogéneo que para *Rhizoctonia solani*, para este hongo, el extracto de ajo si mostró un efecto moderado, sin embargo el extracto de canela, mostró un menor efecto que para *Rhizoctonia solani*, particularmente las concentraciones de 6 y 9 %, lo cual puede atribuirse al hecho de que a las 144hs de incubación, el medio de cultivo conteniendo el extracto, pudo haber comenzado a Descomponer las sustancias responsables de la inhibición. Al igual que en *Alternaria solani*, los extractos que mostraron mayor efectividad en la inhibición fueron los de clavo y gobernadora

Figura 2. Efecto de cinco extractos vegetales y el fungicida Thiabendazol sobre el crecimiento del micelio de *Aspergillus flavus* en medio de cultivo PDA después de 144 hs de incubación



El extracto de ajo y romero fueron estadísticamente iguales, el ajo por su parte fue inferior a la gobernadora, (López *et al* 2005) menciona que este tuvo un efecto inhibitorio importante aunque significativamente inferior a la gobernadora.

CONCLUSIONES

El testigo Tecto 60 (Thiabendazol) utilizado como testigo1, no mostró un efecto inhibitorio completo sobre los hongos *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

Todos los extractos mostraron efectos inhibitorios sobre *Alternaria solani* y *Aspergillus flavus*.

En la interacción extracto por concentración el ajo, canela, clavo y gobernadora a la concentración de 9% tuvieron un efecto similar mientras que al variar este último su respuesta varía en algunos casos.

El extracto de Gobernadora mostró mayor efecto inhibitorio sobre *Alternaria solani*, fue estadísticamente superior al fungicida y al resto de los extractos.

El extracto de clavo fue estadísticamente igual al testigo 1, siendo este último superior a romero y canela en *A. solani*.

No hubo efecto notable en cuanto a extractos de clavo, gobernadora y testigo1 al ser estadísticamente iguales, el extracto de ajo y romero fueron estadísticamente iguales pero inferiores a los antes mencionados en *A. flavus*.

LITERATURA CITADA

Almanza, P. F.J. 2004. Efecto inhibitorio de extractos vegetales acuosos sobre *Rhizoctonia solani* creciendo *in vitro* y sobre la germinación y desarrollo en plantas de frijol. UAAAN, Saltillo, Coahuila; México.

Antonov, A., Stewart, A., and Walter M, 1997. Inhibition of conidium germination and mycelia growth of *Botrytis cinerea* by natural products. pp 159-164.

Barbour, M.G. 1969. Age and space distribution of the desert shrub *Larrea divaricata*. Ecology 50:679-685.

Bautista-Baños, S., Barrera, L., Bravo, L, and Bermúdez, K. 2002a. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. Revista Mexicana de Fitopatología 20:8-12.

Bautista-Baños, S. y Barrera-Necha, L. 2001. Tecnologías empleadas en el control de las enfermedades postcosecha de los productos hortofrutícolas. Memorias de investigación CeProBi-IPN 111-120.

Bautista-Baños, S., García, E., Barrera, L., Reyes, N. and Wilson, C. 2003a. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology 29:81-92.

Brinker, F. 1993. *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (Chaparral or Creosote Bush). British Journal of Phytotherapy 3:10-30.

Carvalho, F. Zhong, N., Tavares y Klaine S.1998. Rastreo de plaguicidas en los trópicos. Boletín del OEIA No 40.

CONABIO. 2006. Capital natural y bienestar social. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. p. 17.

Cowan M M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiological Review 10: 564-582.

Croteau, R.; Kutchan, T.M.; Lewis, N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites). *In* Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Buchanan, B.B.; Grisse, W.; Jones, R.L. (Editors). American Society of Plant Physiologists. Rockville, US. p. 1250-1318.

Duisberg, P.C. 1952. Development of a feed from the creosote bush and the determination of its nutritive value. *Journal of Animal Science* 11:174-180.

Fernández, S., Hurtado, L.M., and Hernández, F. 1979. Fungicidal components of creosote bush resin. In: *Advances in Pesticide Science* (ed. H. Geissbühler) pp. 351-355. Pergamon Press Oxford and New York.

Gamboa-Alvarado, R. 1997. Evaluación de extractos vegetales acuosos sobre el control de la pudrición de la raíz y la corona (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislicopersici*) y efectos fisiológicos en tomate (*Solanum esculentum*) UAAAN, Coahuila; México. 93p.

Grainge, M., Ahmed, S. 1988. *Handbook of plants with pest control properties*. John Wiley & Sons, New York.

INIA 2009. *Uso de extractos naturales como una alternativa ecológica para el control de enfermedades en plantas*. Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Anzoátegui; Venezuela.

Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug Discovery Today* 5(7): 294-300. Consultado el 13 de junio del 2006.

Heinrich, M.; Bames, J.; Gibbons, S.; Williamson, E.M. 2004. *Phytotherapy and pharmacognosy*. In *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Churchill Livingstone. Edinburgh, GB. p. 4-21.

Hernández E. J. 1996. Efectividad biológica del fungicida para control del Tizón temprano *Alternaria solani* (ELL y G. Martin) Jones y Grout en papa *Solanum tuberosum* en el ejido Rancho Nuevo, Arteaga; Coahuila. UAAAN, Saltillo, Coahuila; México.

Hernández-Lauzardo, A.N., Bautista-Baños, S. y Velázquez-del Valle, M.G. 2007b. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(2): 119-123.

Hopkins, W. G. 1999. *Introduction to the Plant Physiology*. John Wiley and Sons. 2a Edición. U. S. A. 512 p.

Lara, H., M.E., García, E.R.G., Valdez, A.L.A. y Tlalpal, B.B. 1997. Efecto de la gobernadora sobre patógenos radicales. *Avances de la Investigación*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp. 74- 75.

Larson, R.O. 1989. The commercialization of neem. In: Jaconson, M. Focus on phytochemical pesticides. Vol. 1. The neem tree. CRC Press, Boca Raton, FL, 155-168.

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(2): 214-222.

Lira-Saldívar R.H., Hernández-Suarez M., Chavez-Betancourt C., Hernández-Castillo F.D. y Cuellar-villarreal E, 2002. Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo, Coah. 2INIFAP-CESAL, Saltillo, Coah., México. Bioplaguicidas de Origen Vegetal: El Caso de los Extractos y Productos Derivados del Arbusto de Gobernadora (*Larrea tridentata*)

López B.A, López B. S.R, Vazquez B. M. E, Rodriguez H.S.A, Mendoza E. M, Padrón E. 2005. Inhibición de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* schlehtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos. Revista Mexicana de Fitopatologia 23:pp 183 – 190.

Mabry, T.J., DiFeo, D.R. Jr., Sakakibara, M., Bohnstedt, C.F. and Siegler, D. 1977. Biology and chemistry of *Larrea*. In: T.J. Mabry, J.H. Hunziker, D.R.Jr. DiFeo (eds.). Creosote Bush bush-biology and chemistry of *Larrea* in New World Deserts, US/IBP Synthesis Series 6 pp. 115-134. Dowden, Hutchinson & Ross Inc., Stroudsburg, PA, USA.

Mendoza C.B. Moreno M.N., M. Weil¹, Elango F. 2007. Evaluación del efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *Phytophthora palmivora* Butl. Y *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Universidad EARTH Las Mercedes de Guácimo, Limón, Costa Rica

Merck Sharp and Dohme Internacional. 1986. Tecto/Mertec. Second Edition. Rahway, New Jersey, USA. 45p.

Montes-Belmont, R., Cruz-Cruz, V., Martínez- Martínez, G., Sandoval-García, G., García-Licon, R., Zilch-Domínguez, S., Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K., Flores-Moctezuma, H.E. y Carvajal-Moreno, M. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. Revista Mexicana de Fitopatología 18:125-131.

Montes-Belmont, R., Espín, G.R., Sosa, H.A. y Pérez, R.R 1995. Evaluación de extractos vegetales para el control de la virosis “chino del tomate” en dos regiones agroecológicas de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13:111-116.

Moreno-Limón¹, L.N. González-Solís², S.M. Salcedo-Martínez¹, M.L. Cárdenas-Avila³ y A. Perales-Ramírez. 2011 efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *aspergillus flavus* y *penicillium* sp. *Polibotánica* 32:pp. 193-205.

NAS. 1969. Insect pest management and control. National Academy of Science. Publ. 1695. Washington, D.C.

Pérez-Homero 1996. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales contra el hongo *Mycosphaerella fijensis* Morelet Causante de la Sigatoka negra en el cultivo de plátano. UAAAN, Saltillo, Coahuila; México.

Pitman, N.; Jorgensen, P. 2002. Estimating the size of the world's threatened flora. *Science* 298(5595): 989.

Portillo-Herrera, A.I. 2005. Aislamiento y purificación de extractos de *Cestrum nocturnum* por cromatografía y evaluación de su efecto antifúngico en *Fusarium* spp. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana 65 p.

Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R. and Vincent, C. 2005. Biopesticides of plant origin. Lavoisier, Paris, France. 1-15.

SAGARPA. 2007. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx>.

Tamez-Guerra P, G. Núñez-Mejía. El Insecticida Botánico Neem (*Azadirachta indica* A. Juss): Ejemplo de Agricultura Sustentable en la India con Potencial Para México Unidad de Formulación de Biológicos de la Facultad de Ciencias Biológicas. San Nicolás de los Garza, N. L., México.

Tovar, H.H. 2000. El nim (neem). Insecticida Botánico. Los insecticidas naturales inician un cambio radical en el control de plagas. Tecnoagro. Año 1. Núm. 2. Naucalpan, Estado de México.

Vargas-Arispuro, I., Araujo-Bernal, S. y Martínez-Téllez, M.A. 1997. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxina de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. *Revista Mexicana de fitopatología* 15:91-95.

Velásquez, V.R. 1981. Evaluación de la actividad fungicida de la resina de gobernadora sobre *Eutypa armeniaca* Hans & Carter. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 48 p.

Viveros-Folleco J., Castaño-Zapata J. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *mycosphaerella fijiensis* morelet Universidad de caldas, Caldas; Colombia 14(1): 37-50

Ware, G.W. 1991. fundamentals of pesticides. A self-instruction guide. 3rd ed. Thomson Publ. Fresno, CA.

CITAS EN INTERNET

http://es.wikipedia.org/wiki/Cinnamomum_verum

http://es.wikipedia.org/wiki/Larrea_tridentata

http://es.wikipedia.org/wiki/Syzygium_aromaticum

http://es.wikipedia.org/wiki/Allium_sativum

<http://www.cipotato.org/training/Materials/HTorres/HTorresTTem.pdf>

<http://cursos.aiu.edu/Estadistica%20Superior/PDF/Tema%204.pdf>

http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/inia_divulga/numero14/id14_chirinos_j.pdf

http://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus_officinalis

http://www.darwinnet.org/docs/guia_contol_organico_plagas.pdf

(<http://www.matiasongonzalez.com/productos/aromaterapia/104-romero.pdf>)

(<http://www.sagarpa.gob.mx> .)

CICOPLAFEST. 2007.<http://www.sagarpa.gob.mx/cicoplafest>.