

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES Y DE *Bacillus* spp.
PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN TOMATE BAJO
CONDICIONES DE INVERNADERO

Tesis

Que presenta MARCO ANTONIO TUCUCH PÉREZ

Como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Octubre 2017

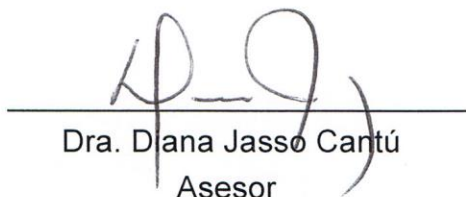
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES Y DE *Bacillus* spp.
PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN TOMATE BAJO
CONDICIONES DE INVERNADERO

Tesis

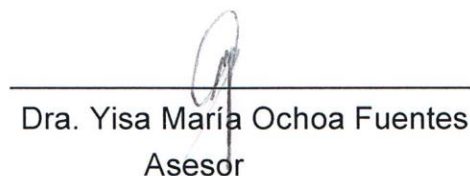
Elaborada por MARCO ANTONIO TUCUCH PÉREZ como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría.



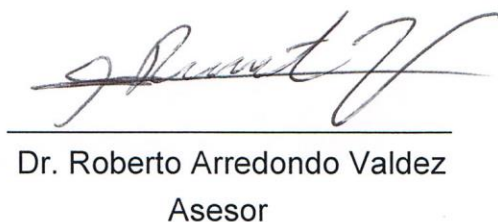
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo
Asesor Principal



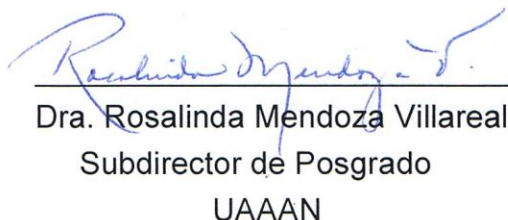
Dra. Diana Jasso Cantú
Asesor



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor



Dr. Roberto Arredondo Valdez
Asesor



Dra. Rosalinda Mendoza Villareal
Subdirector de Posgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme realizar y concluir exitosamente una etapa más en mi vida.

Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo por su apoyo, dedicación y tiempo prestado en la realización de este trabajo.

Al Dr. Roberto Arredondo Valdez por su valioso apoyo durante la realización de este trabajo.

A la Dra. Diana Jasso Cantú por su apoyo y tiempo en la realización de este trabajo.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes por el apoyo y tiempo brindado durante mi estancia en el programa de maestría.

A la empresa GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C.V. por todo su apoyo y confianza al permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones y con sus recursos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por ser parte de mi vida y de mi formación.

A los profesores del Departamento de Parasitología por haberme transmitido sus conocimientos y ser parte de mi formación profesional.

A todas las personas que me acompañaron y me apoyaron durante mi estancia en el posgrado por su apoyo y palabras de aliento para seguir adelante.

DEDICATORIA

A mis padres Fulgencio Martín Tucuch Cauich y Marta Magdalena Pérez Mendoza por ser el ejemplo más grande que tengo en la vida y que con sus enseñanzas y consejos siempre me han guiado y apoyado en todos mis propósitos.

A ustedes dos por darme todo su cariño, amor y comprensión, y por estar siempre conmigo cuando los necesito y por qué siempre me apoyan en todas las decisiones en mi vida.

A mis hermanos Martín y Adriana, que siempre están a mi lado incondicionalmente apoyándome y ayudándome, y por haber estado siempre juntos en tantos momentos

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
Objetivos específicos.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen e Importancia del Cultivo del Tomate.....	4
El Cultivo del Tomate en el Mundo.....	4
El Cultivo de Tomate en México.....	5
<i>Fusarium oxysporum</i>	5
Clasificación de <i>F. oxysporum</i>	5
Importancia de <i>F. oxysporum</i> en tomate.....	6
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	7
Microconidios, macroconidios y clamidiosporas.....	7
Sintomatología de <i>Fusarium oxysporum</i>	8
Medidas de Control de Enfermedades en el Cultivo del Tomate.	9
Control químico.....	9
Control biológico.....	10
Importancia de la Agricultura Orgánica.....	10
Extractos Vegetales Como Fungicidas.....	11
<i>Larrea tridentata</i> (Moc. & Seseé ex DC.)	12
Clasificación taxonómica.....	12
Hábitat y distribución en México.....	13
Descripción botánica.....	13
Composición fitoquímica.....	14
Propiedades antifúngicas.....	14
<i>Lippia graveolens</i> Kunth.....	15
Clasificación taxonómica.....	15
Hábitat y distribución en México.....	15

Descripción botánica.....	15
Composición fitoquímica.....	16
Propiedades antifúngicas.....	16
<i>Jatropha dioica</i> Sessé.....	17
Clasificación taxonómica.....	17
Hábitat y distribución en México.....	17
Descripción botánica.....	17
Composición fitoquímica.....	18
Propiedades antifúngicas.....	18
<i>Agave lechuguilla</i> Torr.....	19
Clasificación taxonómica.....	19
Hábitat y distribución en México.....	19
Descripción botánica.....	20
Composición fitoquímica.....	21
Propiedades antifúngicas.....	21
<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh.) K. Koch.....	21
Clasificación taxonómica.....	21
Hábitat y distribución en México.....	22
Descripción botánica.....	23
Composición fitoquímica.....	23
Propiedades antifúngicas.....	24
Extractos de <i>Bacillus</i> spp. Como Fungicidas.....	24
Composición química de extractos de <i>Bacillus</i> spp.....	25
Uso de <i>Bacillus</i> spp. como agente de biocontrol.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Extractos Vegetales.....	28
Colecta de plantas.....	28
Preparación de los extractos de plantas.....	28
Identificación de los fitoquímicos presentes en los extractos acuosos y etanólicos de plantas.....	29
Metabolitos de <i>Bacillus</i> spp.	29
Obtención de cepas de <i>Bacillus</i> spp.	29
Preparación de los metabolitos secundarios de <i>Bacillus</i> spp.....	30

Obtención e Identificación de la Cepa de <i>F. oxysporum</i>	30
Actividad Antifúngica de los Extractos de Plantas y de los Metabolitos Secundarios de <i>Bacillus</i> spp. <i>in vitro</i>	31
Pruebas <i>in vitro</i> de la actividad antifúngica de extractos de plantas vs <i>F. oxysporum</i>	31
Pruebas <i>in vitro</i> de la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios de <i>Bacillus</i> spp. vs <i>F. oxysporum</i>	33
Porcentaje de inhibición.	34
Cálculo de la concentración inhibitoria al 50% (CI ₅₀).....	35
Efectividad Biológica de Extractos de Plantas <i>in vivo</i> Bajo Condiciones de Invernadero.....	35
Establecimiento del experimento en invernadero.....	35
Material vegetativo.....	35
Sustrato.....	35
Diseño experimental.....	36
Inoculación y trasplante.....	36
Aplicación de los tratamientos.....	37
Riego y fertilización.....	37
Entutorado.....	37
Poda de tallos.....	38
Control de plagas y enfermedades.	38
Variables evaluadas.....	38
Incidencia.....	38
Severidad de follaje.....	39
Severidad de raíz.....	39
Peso seco de la biomasa aérea y de raíz.....	39
Altura de planta	40
Longitud de raíz.....	40
Diámetro de tallo	40
Clorofila en hojas.....	40
Número y peso de frutos	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
Fitoquímicos Identificados en los Extractos Acuosos y Etanólicos de Plantas.....	41

Identificación Bioquímica de las Cepas de <i>Bacillus</i> spp.	43
Identificación Morfológica de <i>F. oxysporum</i>	43
Actividad Antifúngica de los extractos de Plantas y de Metabolitos Secundarios de <i>Bacillus</i> spp. <i>in vitro</i> Sobre el Crecimiento de <i>F. oxysporum</i>	44
Actividad antifúngica de extractos acuosos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	44
Actividad antifúngica de extractos etanólicos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	47
Concentración inhibitoria al 50% (CI ₅₀) de los extractos de plantas....	50
Actividad antifúngica de metabolitos secundarios de <i>Bacillus</i> spp. sobre <i>F. oxysporum</i>	52
Efectividad Biológica de los Extractos de Plantas Sobre <i>F. oxysporum</i> y Sobre el Desarrollo del Cultivo de Tomate <i>in vivo</i> Bajo Condiciones de Invernadero.....	54
Incidencia y severidad de la enfermedad.....	54
Peso seco de la biomasa aérea y altura de planta.....	56
Peso seco de raíz y longitud de raíz.....	58
Diámetro de tallo.....	60
Clorofila en hojas.....	60
Número y peso de frutos.....	61
CONCLUSIONES.....	63
LITERATURA CITADA.....	64
ANEXOS.....	81

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos empleados para determinar su actividad antifúngica contra <i>F. oxysporum</i> mediante el método de microdilución en placa.....	32
Cuadro 2. Tratamientos empleados para determinar su efectividad biológica contra <i>F. oxysporum</i> bajo condiciones de invernadero.....	36
Cuadro 3. Composición de la solución nutritiva utilizada para fertirrigación de tomate (Solución de Steiner).....	37
Cuadro 4. Fitoquímicos identificados en extractos acuosos.....	42
Cuadro 5. Fitoquímicos identificados en extractos etanólicos.....	42
Cuadro 6. Identificación bioquímica de las diferentes cepas de <i>Bacillus</i> spp.....	43
Cuadro 7. Concentración CI_{50} de extractos acuoso y etanólicos para inhibición de <i>F. oxysporum</i>	51
Cuadro 8. Severidad en follaje y raíz en las plantas de tomate por <i>F. oxysporum</i>	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Arreglo de los extractos de plantas y concentraciones en la placa de 96 pozos.....	31
Figura 2. Arreglo de los extractos de metabolitos secundarios de <i>Bacillus</i> spp. y concentraciones en la placa de 96 pozos.....	34
Figura 3. Porcentaje de inhibición de extractos crudos acuosos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	45
Figura 4. Porcentaje de inhibición de extractos resuspendidos acuosos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	47
Figura 5. Porcentaje de inhibición de extractos crudos etanólicos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	48
Figura 6. Porcentaje de inhibición de extractos resuspendidos etanólicos de plantas sobre <i>F. oxysporum</i>	49
Figura 7. Porcentaje de inhibición de metabolitos secundarios de <i>Bacillus</i> spp. sobre <i>F. oxysporum</i>	53
Figura 8. Incidencia en las plantas de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	54
Figura 9. Peso seco de la biomasa aérea de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	57
Figura 10. Altura de plantas de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	58
Figura 11. Peso seco de raíz de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	58
Figura 12. Longitud de raíz de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	59
Figura 13. Diámetro de tallo de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	60
Figura 14. Clorofila en hojas de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	61
Figura 15. Numero de frutos de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	62
Figura 16. Peso de frutos de las planta de tomate inoculadas con <i>F. oxysporum</i> y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.....	62

RESUMEN

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES Y DE *Bacillus* spp.
PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN TOMATE BAJO
CONDICIONES DE INVERNADERO

Por

MARCO ANTONIO TUCUCH PEREZ

MAESTRO EN CIENCIA EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
CALZADA ANTONIO NARRO No. 1923, BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA
OCTUBRE 2017

DR. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO –ASESOR-

Palabras Clave: *Fusarium oxysporum*, extractos vegetales, *Bacillus*, control biológico, fungicidas.

F. oxysporum ocasiona pérdidas en la producción de tomate, para controlarlo se emplean fungicidas químicos, los que afectan el medio ambiente y causan problemas de resistencia. Lo anterior ha propiciado el desarrollo de alternativas ecológicas como los extractos vegetales. En el siguiente trabajo se evaluaron extractos etanólicos y acuosos de: *Larrea tridentata*, *Lippia graveolens*, *Jatropha dioica*, *Agave Lechuguilla* y *Carya illinoensis* contra *Fusarium oxysporum*; se determinó su actividad antifúngica *in vitro*, así como la CI_{50} , también se estudió la actividad antifúngica de metabolitos secundarios de *Bacillus* spp., y la efectividad biológica de los extractos vegetales *in vivo* en plantas de tomate. Los experimentos *in vitro* se realizaron mediante la técnica de microdilución en placa, en la cual se usaron placas de 96 pozos. En el

experimento *in vivo* los tratamientos fueron: T1= *L. graveolens* tallo (125 mg/L), T2= *L. graveolens* hoja (500 mg/L), T3= *A. lechuguilla* hoja (250 mg/L), T4= *C. illinoensis* ruzno (250 mg/L), T5= Testigo químico, T6= Testigo inoculado y T7= Testigo absoluto. Se observó que los extractos etanólicos de tallo y hojas de *L. graveolens* inhibieron al 100% *F. oxysporum* con valores de CI_{50} de 8.89 mg/L y de 22.77 mg/L, respectivamente seguidos de raíz y hojas de *A. lechuguilla* con 34.74 mg/L y 54 mg/L. En el experimento *in vivo* se observó que la incidencia y severidad de la enfermedad fue menor con los tratamientos a base de extractos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla*, además de tener un efecto positivo en el desarrollo del cultivo.

ABSTRACT

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF VEGETABLES EXTRACTS AND OF *Bacillus* Spp.
FOR THE *Fusarium oxysporum* CONTROL IN TOMATO IN GREENHOUSE
CONDITIONS

By

MARCO ANTONIO TUCUCH PEREZ

MASTER IN SCIENCE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONÓMA AGRARIA ANTONIO NARRO
CALZADA ANTONIO NARRO No. 1923, BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA
OCTOBER 2017

DR. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO –ADVISOR–

Keywords: *Fusarium oxysporum*, vegetable extracts, *Bacillus*, biological control, fungicides.

F. oxysporum causes losses in tomato production. For its control, chemical fungicides are used; affecting the environment and causing resistance problems; this problem has propiciated the development of ecological alternatives; such as the vegetables extracts. In this work were evaluated ethanolic and aqueous extracts from: *Larrea tridentata*, *Lippia graveolens*, *Jatropha dioica*, *Agave Lechuguilla* and *Carya illinoensis* against *F. oxysporum*; to determinate their antifungal activity *in vitro*, as well as their CI₅₀, also the antifungal activity of secondary metabolites from *Bacillus* spp was determinated, and the biological effectiveness of the vegetable extracts *in vivo*. *In vitro* experiments were performed by the microdilution in plate method, for this, plates of 96 wells were used. For *in vivo* experiment the treatments were: T1= *L. graveolens* stem (125 mg/L), T2= *L. graveolens* leaf (500 mg/L), T3= *A. lechuguilla* leaf (250 mg/L),

T4= *C. illinoensis* husk (250 mg/L), T5= Chemical witness, T6= Inoculated witness y T7= Absolute witness. It was observed that the ethanolic extracts of stem and leaf from *L. graveolens* inhibited 100% to *F. Oxysporum* with values of CI_{50} of 8.89 mg/L and 22.77 mg/L, respectively followed by the extracts of the root and leaf from *A. lechuguilla* with 34.74 mg/L and 54 mg/L. For the *in vivo* experiment it was observed that the extracts from *L. graveolens* y *A. lechuguilla* presented lower incidence and severity, also the extracts have positively effect in the crop development

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los principales cultivos tanto a nivel mundial, como a nivel nacional, con una producción de alrededor de 2,875,164 Toneladas (SIAP, 2016). El cultivo del tomate es afectado por diversas enfermedades fungosas; una de las más importantes es el marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Este patógeno ha sido reportado en Estados Unidos y México desde 1978 (Ascencio *et al.*, 2008).

Esta enfermedad es considerada una de las más devastadoras en regiones donde se cultiva el tomate, causando pérdidas de hasta 60% (González *et al.*, 2012), afecta la economía de los productores al no tener un buen control incluso la de una región entera. Actualmente, el principal control de la enfermedad es mediante la aplicación de productos químicos como los fungicidas o biocidas sin embargo, diversos estudios han demostrado que el uso continuo e indiscriminado de estos productos ocasiona problemas medioambientales, de resistencia por parte de los patógenos y efectos en la salud humana (Lucas *et al.*, 2015; Badii y Varela, 2015; Conant y Fadem, 2008). Aunado a esto, la superficie sembrada en el país bajo condiciones de agricultura protegida la cual reduce significativamente la aplicación de agroquímicos ha ido en aumento; y en el año 2005 paso de 395 ha a 13 743 ha en el año 2015 (FIRA, 2016). Por lo tanto existe una necesidad urgente de desarrollar métodos alternativos para el control de enfermedades en plantas (Jeong *et al.*, 2017).

Por esta razón, el uso de extractos vegetales y microbianos, que resultan menos dañinos con el medio ambiente, y con poco o nulo efecto a la salud humana, además de no inducir resistencia en los patógenos y ser biodegradables e inocuos; surgen como una alternativa para el control de enfermedades (Conabio, 2998). De igual forma, la interacción de los compuestos de los extractos con la planta, tienen un efecto positivo en el desarrollo de esta. Se han evaluado extractos vegetales de *Flourensia cernua* los cuales disminuyeron la severidad de *F. oxysporum* en cultivos de tomate

hasta un 50%, de igual forma ayudaron al crecimiento y desarrollo del cultivo (Ubaldo-Vásquez, 2014); por su parte Hanaa *et al.* (2011) observaron en plantas de tomate una reducción en la incidencia de la enfermedad de la marchitez causada por *F. oxysporum* de hasta un 30% usando extractos de *Azardiachta indica* y *Salix babylonica*.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la efectividad biológica de extractos de *L. tridentata*, *L. graveolens*, *J. dioica*, *A. lechuguilla*, *C. illinoensis* y de *Bacillus* spp. en el control de *Fusarium oxysporum*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la CI_{50} de extractos vegetales y la actividad antifúngica de los metabolitos de *Bacillus* spp.
- Determinar la efectividad biológica de los extractos vegetales en el cultivo del tomate bajo condiciones de invernadero.

HIPÓTESIS

- Al menos algún extracto vegetal de *L. graveolens*, *L. tridentata*, *A. lechuguilla*, *J. dioica*, *C. illinoensis* o de *Bacillus* spp. tiene actividad antifúngica sobre el crecimiento de *F. oxysporum in vitro*
- Al menos un extracto vegetal controla la enfermedad en el cultivo bajo condiciones de invernadero.

REVISION DE LITERATURA

Origen e Importancia del Cultivo del Tomate.

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es originario de América del sur, de la Región de los Andes, en lo que actualmente es Perú, Ecuador, Bolivia y Chile, sin embargo, su domesticación fue llevada a cabo en México; es una planta de porte erecto o semierecto, arbustivo y cultivo de tipo anual. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas). Su fruto es una baya ovalada, redonda o periforme; y su tamaño va desde pequeños frutos del tamaño de una cereza, hasta enormes frutos de 750 gr (SAGARPA, 2010).

El crecimiento vegetativo es continuo, aproximadamente en seis semanas después de la siembra inicia su comportamiento generativo, produciendo flores en forma continua y de acuerdo a la velocidad de su desarrollo. La inflorescencia es lateral. Este tipo de tomate tiene tallos axilares de gran desarrollo. Para la producción mecanizada se prefieren las variedades de tipo determinado, que son bajos o arbustivos. Los procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo de la planta de tomate dependen de las condiciones del clima, del suelo y de las características genéticas de la variedad (Estrada *et al.*, 2006). A nivel mundial el tomate es el cuarto vegetal más cultivado con una superficie de más de 3 millones de hectáreas, solo por detrás del arroz, trigo y soya (FAOSTAT, 2015).

El Cultivo del Tomate en el Mundo

El tomate es una especie muy cultivada y producida por su gran valor nutrimental y por su sabor; esto se ha reflejado en el aumento de la producción, mundial de tomate la cual aumentó del 2000 al 2013 de 110,398, 923.00 Ton a 163,963, 770.00 Ton. Siendo los principales países productores China, India, Estados Unidos, Turquía, Egipto, Irán, Italia, Brasil, España y México (FAOSTAT, 2015).

El Cultivo de Tomate en México

En México, la superficie sembrada es de 52, 374 ha, con una producción de 2, 875,164 ton, en México como en el mundo la producción de tomate ha aumentado significativamente, ya año 2000 se reportó que hubo una producción de \$8,002,226,000.64 y aumento a \$ 20,639,978,000.73 en el año 2015 (SIAP 2016), lo que lo coloca como el séptimo cultivo con mayor valor en México solo por detrás del maíz, caña de azúcar, aguacate, pastos, sorgo y chile verde. La calidad del tomate producido en México ha mejorado notablemente, y esto se ha visto reflejado en el aumento de las exportación a otros países; entre los principales países a los que se exporta tomate se encuentran Estados Unidos, Canadá y la Unión Europea (INEGI, 2017).

El mayor productor de tomate en México es el estado de Sinaloa con una superficie sembrada de 15,307 hectáreas, a este le siguen los estados de San Luis, Michoacán, Jalisco y Zacatecas (SIAP, 2016). El tomate ocupa el primer lugar en exportación, desde hace 20 años, sin embargo entre los factores que inciden negativamente en la productividad del cultivo de tomate resaltan las enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus (Ramírez y Sainz, 2006).

Fusarium oxysporum

Clasificación de *F. oxysporum*

La especie *F. oxysporum* pertenece al Phylum Ascomycota, Clase Sordariomycetes, Orden Hipocreales y Familia Nectriaceae. Entre los hongos filamentosos, el género *Fusarium* es uno de los más importantes, fue descrito por primera vez por Link en 1809 (Leslie *et al.*, 2001).

Las formas especiales son cepas morfológicamente indistinguibles que se caracterizan por su adaptación a diferentes hospedantes (Deighton *et al.*, 1962). Se pueden definir como un conjunto de cepas que atacan a una especie vegetal o a unas cuantas especies del mismo género. Este mismo concepto se utiliza

para definir cepas que producen una patología diferente aunque parasiten a la misma especie vegetal (Gordon y Martyn, 1997).

La nomenclatura utilizada para designar a las formas especiales, es un trinomio en latín, con el nombre de las especies, seguido de una referencia al huésped al que parasitan, lo que ha llevado a muchos investigadores a pensar que representan un grupo monofilético natural, datos recientes demuestran que dentro de algunas formas especiales de *F. oxysporum* existen aislamientos de orígenes independientes. Por lo tanto la asociación de determinadas cepas con un hospedante no implica necesariamente una divergencia de carácter monofilético (Kistler, 2010).

Dentro de *F. oxysporum* han sido descritas más de 70 formas especiales (Armstrong y Armstrong, 1981) en la que la mayoría de las veces presentan un rango de hospedantes restringido a unas pocas especies de un mismo género. Sin embargo; algunas de las formas especiales como *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* pueden causar enfermedades en otras especies de plantas además de tomate, como leguminosas, brasicáceas, cicerbitáceas, etc., al menos en inoculaciones artificiales (Menzies *et al.*, 1990).

Importancia de *F. oxysporum* en tomate

El tomate es una de las principales hortalizas cultivadas en el mundo; *F. oxysporum* es una problemática que afecta al cultivo en una proporción muy alta; esta enfermedad ha sido identificada como una de las más devastadoras en todas las regiones del mundo donde se cultiva tomate (Marlatt *et al.*, 1996), ya que afecta directamente su sistema vascular, evitando el paso de nutrientes esenciales para un buen desarrollo de la planta.

Se ha calculado que esta enfermedad puede llegar a ocasionar pérdidas en la producción y en los rendimientos de hasta un 60 % (Hernández- Martínez, *et al.*, 2014; González *et al.*, 2012), afectando también la calidad del producto. Esta enfermedad afecta al menos 32 países en gran diversidad de condiciones, informándose hasta el momento, tres razas, las cuales se distinguen por su

virulencia en materiales que contienen genes de resistencia (Amaral *et al.*, 2008).

F. oxysporum* f.sp. *lycopersici

La marchitez vascular causada por especies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* es la principal enfermedad del cultivo de tomate. El micelio es incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido o algo púrpura. El patógeno es un organismo que habita en el suelo y que sobrevive en el cultivo, en los restos de plantas infectadas que yacen en el suelo en forma de micelio y en cualquiera de sus formas de esporas, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidiosporas, sobre todo en las regiones templadas frías (Agrios, 1995)

El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus anfitriones, y si se encuentra cerca una planta hospedera, la infección puede iniciar en las raíces, en partes de la planta por encima del suelo, a través del aire o el agua. *Fusarium oxysporum* penetra inicialmente por raíz de forma asintomática; posteriormente, coloniza tejido vascular y desencadena un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta (Ma *et al.*, 2013).

Microconidios, macroconidios y clamidiosporas

Este patógeno produce tres tipos de esporas asexuales, los microconidios, que tienen de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con una mayor frecuencia y en mayor abundancia en todas las condiciones. Son las esporas que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas hospedantes que ha infectado. Los macroconidios, son las esporas típicas de *Fusarium*, están constituidos de 3 a 5 células, se adelgazan gradualmente y se encorvan hacia ambos extremos. Aparecen usualmente sobre la superficie de plantas que han sido destruidas por el patógeno y por lo común se forman en grupos similares a los esporodoquios. El último tipo de

espora son las clamidosporas, que están constituidas por una o dos células, son de pared gruesa y son esporas redondas que se forman terminal o intercaladamente en el micelio más viejo o en los macronidios del hongo. Estos tres tipos de esporas se forman en los cultivos del hongo y quizá también en el suelo, aunque cabe decir que sólo las clamidosporas sobreviven en este último sustrato durante más tiempo (Agrios, 1995).

Sintomatología de *F. oxysporum*

Esta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa, sin embargo también se han reportado fuertes infecciones en invernaderos. Los daños se presentan principalmente cuando se tiene un estrés hídrico, principalmente en la etapa de floración y fructificación (Ramírez, 1998). Los síntomas inician con un amarillamiento en las hojas más viejas, extendiéndose a toda la planta y ocasionando una clorosis que a veces se presenta en las hojas de un sólo lado de la planta, y en ocasiones sólo en la mitad de éstas (Cárdenas, 2000).

Las hojas afectadas se marchitan y mueren, aunque pueden permanecer adheridas al tallo. Si se realiza un corte transversal del tallo, se observa una necrosis vascular de color café en forma de anillo, la cual se extiende hacia la parte apical de la planta de acuerdo con la severidad de la enfermedad, marchitando y matando a las plántulas o plantas adultas. Las plantas más viejas pueden marchitarse y morir repentinamente, sin embargo; comúnmente muestran achaparramiento, epinastia, amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez de las hojas y tallo jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y finalmente la muerte de la planta (Sánchez, 1998).

Cuando las raíces y los tallos son colonizados, los síntomas se muestran como una pudrición necrótica, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas; lo cual acelera el marchitamiento del follaje. Después que la planta muere, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo bajo condiciones de ambiente húmedo (Valdez, 1999).

Medidas de Control de Enfermedades en el Cultivo del Tomate.

Control químico

El control químico hace referencia al uso de sustancias tóxicas de síntesis química, con acción biocida, con el objetivo de eliminar o inhibir la acción de los patógenos que afectan a los cultivos. Este tipo de control ha sido por muchos años el más usado, por lo general, genera abuso y dependencia por su alta eficacia y facilidad de uso. Sin embargo; su uso excesivo e indiscriminado ha ocasionado que los microorganismos desarrollen resistencia a los ingredientes activos (Jaramillo, 2007).

Se tienen numerosos reportes acerca de que debido a la aplicación intensa de productos sintéticos se ha generado resistencia en los microorganismos patógenos disminuyendo en gran medida la efectividad de estos (Bautista-Baños, 2006). De igual forma este uso intensivo afecta y tiene un impacto ambiental considerable, ya que puede dañar organismos benéficos para el cultivo; así como la atmósfera, el suelo y cuerpos de agua. Se estima que el bromuro de metilo, el cual es usado como un fumigante de suelos en la agricultura, es el responsable del 5-10% del adelgazamiento de la capa de ozono (Ramírez-Legarreta y Jacobo-Cuellar, 2002); de igual forma los fungicidas químicos tienden a tener una residualidad en los alimentos, actualmente son cada vez mayores las objeciones de orden higiénico-sanitarias que se plantean, ya que los fungicidas se presentan como potenciales agentes cancerígenos cuando son aplicados en los cultivos.

La preocupación por sus posibles efectos nocivos en fruta adquiere especial importancia si tenemos en cuenta que la fruta suele ser consumida en fresco y a la proximidad temporal entre la aplicación de los tratamientos y su consumo. Debido al grave problema que representan los residuos de productos químicos para la salud humana, los diferentes países y en especial los más desarrollados han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) bastante restrictivos (Viñas *et al.*, 2006).

Control biológico

El control biológico se puede definir, como el uso de organismos vivos para control de plagas como insectos, bacterias, hongos o malezas. Para esto se usan los organismos vivos o compuestos que estos sintetizan dentro de su mismo metabolismo. Este tipo de control tiene ciertas ventajas como: la especificidad en su actuación, respeto al medio ambiente y los patógenos tienden a desarrollar menor resistencia a productos microbianos que a productos químicos (Fernández y Juncosa, 2002). En el marco de una agricultura orgánica, los investigadores se han enfocado a la búsqueda de nuevos compuestos para el control de enfermedades cuya actividad y seguridad ambiental sea adecuada (Wilson *et al.*, 1999; Bautista *et al.*, 2004; Boyraz y Ozcan, 2006; Hernandez *et al.*, 2007 e Igbinsosa *et al.*, 2009).

Importancia de la Agricultura Orgánica

La agricultura, especialmente en su forma más extrema de monocultivo industrializado, altera el paisaje; y daña y altera los productos y sistemas del ecosistema, incluyendo la biodiversidad en todos sus niveles. Tanto la invasión agrícola de los territorios, como la contaminación y la intensificación contribuyen a la degradación de los suelos y las aguas; y también a la extinción de la biodiversidad (FAO, 2003a).

En la actualidad, la agricultura orgánica se ha vuelto importante en muchos países del mundo. Este tipo de agricultura define estrategias que combina elementos como la ecología de las plagas, la ecología de las plantas o la ecología del suelo en un enfoque único. El manejo orgánico se concentra en las relaciones en las cadenas alimentarias y en los ciclos de los elementos y busca maximizar la estabilidad y la homeostasis del agro ecosistema. Sin el uso de agroquímicos la agricultura orgánica impide que se degraden los recursos naturales y se pierdan tierras y potencial productivo; al no utilizar productos sintéticos los productores se ven obligados a restaurar el equilibrio ecológico

natural por que las funciones del ecosistema son su principal insumo productivo (FAO,2003b).

De esta forma la agricultura orgánica llega a ser importante para preservar el medioambiente, cuidar la salud humana y para tener un sistema económico y productivo mucho más justo para todas las personas. Y tal es su importancia que muchos países en la actualidad han empezado a cambiar sus leyes para dirigir su producción agrícola a una producción orgánica. Con tasas de crecimiento crecientes, los productos orgánicos conquistan cada vez más rápidamente las estructuras de mercado de alimentos en el ámbito mundial.

Extractos Vegetales Como Fungicidas

Dentro del control biológico como alternativa a los productos químicos para el control de hongos fitopatógenos se presenta el uso de extractos vegetales. Las plantas por si solas producen metabolitos secundarios para protegerse de ataque de fitopatógenos. Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano, entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999).

Su mecanismo de acción es variable; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos; el modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos; de los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el ADN, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999).

En el caso de México una fuente importante de plantas para extractos es el desierto Chihuahuense, en el existe una gran diversidad de plantas que producen compuestos con actividad anti fúngica, entre estas plantas se

encuentra *L. tridentata* la cual produce compuestos como polifenoles, taninos, ácido gálico, catequina y NDGA (Mercado y Aguilar, 2008); *L. graveolens* con compuestos como aceites esenciales, timol, carvacol y p-cimeno (Silva *et al.*, 2008); *J. dioica* contiene compuestos como terpenos, flavonoides, derivados galicos y cateticos (Belmares *et al.*, 2008); y *A. lechuguilla* que contiene sales minerales, saponinas y oxalatos de calcio (Hernández-Soto y Díaz-Jiménez, 2008).

Se ha investigado algunas de estas plantas como fungicidas, ejemplo de esto es *L. tridentata* que afectó el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *F. oxysporum*, *A. lechuguilla* que controló *Botrytis cinerea* y *L. graveolens* controló *Penicillium digitatum* (Hernández *et al.*, 2011). En el caso de *J. dioica* disminuyó la incidencia y severidad de *F. oxysporum* en tomate usando extractos del tallo (Salas, 2013).

Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas son biodegradables e inoocuos, y que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y que más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas del país (CONABIO, 1998), resulta conveniente investigar y explorar el potencial de empleo de extractos vegetales para el control de enfermedades en cultivos. Por esta razón, los extractos vegetales con propiedades antifúngicas son una opción al uso de fungicidas sintéticos para el manejo de enfermedades fungosas (Ujváry, 2002).

***Larrea tridentata* (Moc. & Seseé ex DC.)**

Clasificación taxonómica

L. tridentata es un arbusto de la familia Zygophyllaceae nativa del suroeste de Estados Unidos y Norte de México (Thompson y Anderson, 2005).

Hábitat y distribución en México

Crece en los sitios más secos de México, en terrenos planos, laderas, lomeríos bajos (originados de materiales geológicos del cretácico superior e inferior) y en planicies aluviales. Se desarrolla en lugares con temperaturas de 14 a 28 °C y presencia de 8 meses de sequía, en climas áridos (BS) y muy áridos (BW) y precipitaciones de 150 a 500 mm anuales. No prospera en zonas de clima isotermo. Los suelos en los que se desarrolla son de profundidad variable, textura franco arenosa, estructura granular, drenaje interno medio de consistencia friable, de color café grisáceo, compacto arcilloso, calcáreo, blanco-arenoso, aluvial con pH de 6.8 a 7.6 (Conabio, 2017).

Se ha registrado en los estados de Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Correll y Johnston, 1970; Villaseñor y Espinosa, 1998).

Descripción botánica

L. tridentata es un arbusto perenne xerófito siempre verde. El tamaño de la planta varía de 0.5 a 4 m en altura dependiendo de la lluvia de invierno o verano, y la altura promedio varía de acuerdo a su raza de ploidía (diploide 86 cm, hexaploide 112 cm y tetraploide 138 cm). No hay un tallo principal, pero las ramas gruesas crecen vertical u oblicuamente desde la corona radicular y se hace dicotómica lateralmente (Coyle y Roberts, 1975). Las hojas son pequeñas y bifoliadas, de un verde oscuro a verde amarillento con cutículas gruesas y una capa resinosa, tienen pecíolos cortos y crecen opuestas en las ramas. Las flores son amarillas, usualmente aparecen al final del invierno o a principios de la primavera, pero pueden florecer en cualquier momento después de una lluvia; crecen cerca de las terminaciones de los retoños jóvenes como capullos solitarios con cinco pétalos y su polen y néctar atraen muchas abejas (unas 30 especies diferentes). Los frutos son pequeños (4 a 7 mm de diámetro), tienen una cubierta vellosa y contienen cinco semillas que se esparcen en primavera y

al principio del otoño por el viento y la lluvia (Shreve y Wiggins, 1964; Coyle y Roberts, 1975).

Composición fitoquímica

L. tridentata es una fuente excepcional de compuestos naturales con aproximadamente el 50% de las hojas siendo materia extraíble (Arteaga *et al.*, 2005). Algunos metabolitos secundarios identificados en *L. tridentata* incluyen lignanos (Ácido dihidroguaietico, hemi-norisoguaicina y norisoguaicina), flavonoides (Agllicones: apigenina y kaempferol, glucósidos: chrysoeriol y quercitina, saponinas (Larreagenina A y ácido larreico), triterpenos y triterpenoides (Martins *et al.* 2013).

Propiedades antifúngicas

Velásquez (1981), indica que en estudios *in vitro* de fracciones etanólicos de *L. tridentata* a dosis de 2,000 ppm, se observó que inhibió el crecimiento de *Cytospora* sp. 15 días después de la inoculación; este hongo es el estado asexual de *Eutypa armeniaca* agente causal del brazo muerto de la vid; además se observó que inhibió la germinación de las ascosporas de *E. armeniaca* a la misma dosis, pero con extractos en base a etanol y cloroformo. De igual forma Rivera- Castañeda *et al.* (2001) observaron una inhibición total en la germinación de telioesporas de *Tilletia indica* tratadas con extractos de *L. tridentata* a una concentración de 500 mg/mL, las teliosporas tratadas con este extracto no mostraron viabilidad cuando se transfirieron a medio de cultivo fresco, por lo que el extracto de gobernadora mostró su potencial como agente de control.

En un estudio de Lira-Saldívar *et al.* (2002) se encontró que los extractos metanólicos hidrosolubles de resina de *L. tridentata* colectados a diferentes latitudes en los desiertos Chihuahuense y desierto Sonorense, mostraron claramente una acción inhibitoria sobre el crecimiento del hongo *F. oxysporum*, revelando un marcado efecto diferencial en relación con la región geográfica

donde se colectó el follaje de gobernadora, debido a que la mayor inhibición (90.3%) ocurrió con los extractos de latitudes sur del desierto sonorense.

***Lippia graveolens* Kunth**

Clasificación taxonómica

L. graveolens pertenece a la familia Verbenaceae, es un arbusto pequeño que puede crecer hasta los 2 m. En México es conocido como Cacachica, orégano, salvia de castilla o hierba dulce (BDMTM, 2009a).

Hábitat y distribución en México

El orégano es una especie que se adapta a condiciones muy variadas de clima, preferentemente del tipo seco y semiseco de regiones áridas y semiáridas, con suelo pedregoso (García, 1973). Su principal hábitat se localiza en lugares poco accesibles como cerros, laderas, lomeríos, arroyos y cañadas de suelos alcalinos, generalmente pedregosos, con pH de 7.3 a 8.5 de textura francoarenosa dentro de un rango altitudinal que va desde 400 hasta 2000 m.s.n.m., encontrándose con mayor abundancia entre los 1400 y 1800 m.s.n.m. (Huerta, 2002).

La región conformada por los estados de Chihuahua, Durango, Tamaulipas y Coahuila, es en donde se localizan las principales áreas productoras de orégano, mismas que concentran el 50% de los permisos autorizados para el aprovechamiento. Le siguen en orden de importancia los estados de Jalisco, Zacatecas, Durango, Querétaro, Sinaloa, Hidalgo y Baja California Sur (Huerta, 2002).

Descripción botánica

Forma un pequeño arbusto achaparrado que mide de 45 cm hasta 1.80 m de alto. Los tallos a menudo adquieren una tonalidad rojiza, se ramifican en su parte superior, tienden a deshojarse en las partes inferiores y contienen sustancias tánicas (Sánchez, 2007). Hojas opuestas ovales y anchas de entre 2

a 5 cm de largo, con bordes enteros o ligeramente dentados con el haz denso y suavemente piloso, el envés glandular y densamente tomentoso a piloso, el margen finamente crenado, el ápice generalmente obtuso o redondeado, raramente agudo, la base redondeada a subcordada; pecíolos de 5-10 mm de largo. Flores diminutas de color blanco que nacen en apretadas inflorescencias terminales muy ramificadas, están protegidas por diminutas hojillas de color rojizo. Frutos pequeños encerrados en el cáliz. (Villavicencio-Gutiérrez *et al.*, 2010).

Composición fitoquímica

L. graveolens es una de las plantas aromáticas más importantes en México, ya que es uno de los principales exportadores de orégano, representando del 30 - 40% del mercado internacional (Martínez-Nataren *et al.*, 2011). Los análisis químicos de los compuestos de la raíz y de la parte aérea de *L. graveolens* identificaron las siguientes sustancias: aceites esenciales, 10 o más iridoides, dos flavonoides, una naftoquinona y 23 flavonoides (García-Bores *et al.*, 2017). Los aceites esenciales son productos generalmente muy complejos que contienen unas sustancias volátiles de origen vegetal, más o menos modificadas por los procesos de extracción y conservación.

Los aceites esenciales los producen especialmente las plantas aromáticas, ya que aunque la mayor parte de las plantas los contienen, son éstas las que concentran una mayor cantidad (Infoagro, 2004). Toda la planta posee unas pequeñas glándulas donde esta almacenada la esencia aromática, de color amarillo limón, compuesta por un Estearopteno y dos tipos de fenoles, uno de ellos Carvacrol y el otro Timol. La calidad de estos componentes determinan su valor en el mercado (Huerta, 2005).

Propiedades antifúngicas

Jasso de Rodríguez *et al.* (2011) mencionan que los extractos etanólicos y hexánicos de *L. graveolens* presentaron un efecto antifúngico sobre *Rhizopus stolonifer* inhibiendo el 100% del crecimiento, de igual forma Peschiutta *et al.*

(2016) observaron mayor inhibición de *Fusarium veticilloides* que con aceite esencial de hojas de *L. graveolens*. Finalmente Hernández *et al.* (2008) reportaron actividad antifúngica por parte de aceite esencial de *L. graveolens* sobre *F. sporotrichum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *F. moniliforme* y *Rhizoctonia solani*.

***Jatropha dioica* Sessé**

Clasificación taxonómica

J. dioica es nativa de México y de Texas (Manzanero *et al.*, 2009; Richardson, 2010; Fresnedo y Orozco, 2012) comprendiendo uno de los arbustos de la familia Euphorbiaceae, que presentan un jugo incoloro el cual se vuelve oscuro en contacto con el aire.

Hábitat y distribución en México

El hábitat de esta especie es en clima seco, con suelo muy pedregoso sobre la sierra, aunque se logra desarrollar en las faldas de cerros. Es una especie capaz de crecer en zonas perturbadas en donde es muy difícil que crezcan otras plantas (Blanco, 1983). Se desarrolla principalmente en las tierras, altas un 86% de los registros estuvieron presentes en alturas entre 1200 y 2200 m.s.n.m. se encuentra en una zona con una gran diversidad de climas: semi-seco templado muy caliente y seco, templado sub-húmedo y caliente sub-húmedo, sin embargo se han encontrado registros de hasta 2800 m.s.n.m. (Fresnedo y Orozco, 2012). Se encuentra principalmente en matorrales xerófilos, del noreste hasta el centro del país (Martínez y Matuda, 1979).

Descripción botánica

J. dioica es una planta originaria de México, también comúnmente conocida como sangre de drago, sangre de grado o sangregado. Es un arbusto de 50 cm a 1.50 m de altura y debe su nombre común a que tiene un jugo incoloro que cambia a oscuro al contacto con el aire. Sus ramas son de color rojizo-moreno con las hojas más largas que anchas. Sus flores son pequeñas y en grupos de

color rosa. Los frutos son globosos de 1.5 cm de largo y tienen una semilla en su interior (BDMTM, 2009b, UAQ, 2009).

Composición fitoquímica

Hay trabajos que describen su actividad antiviral (Silvia *et al.*, 2013), antifúngica (Alanis *et al.*, 2007; Silvia *et al.*, 2014) y antimicrobiana (Silvia *et al.*, 2014). Entre los fitoquímicos presentes Martínez *et al.* (2014) mencionan alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, cumarinas, carbohidratos, azúcares reductores, flavonoides, fenoles y taninos. Es una especie muy poco estudiada, las únicas investigaciones que existen se han hecho por científicos mexicanos en colaboración con extranjeros, siendo relativamente antiguas. Sin embargo, de la raíz se han identificado tres diterpenos, la citlalitrona, jatrofona, y riolosatriona y un esteral, el R-sitosterol. De las raíces se obtiene un aceite esencial, resina, saponinas, un alcaloide y ácido oxálico. De los tallos emana un látex rico en taninos (BDMTM, 2009b).

Recientemente Aguilera *et al.* (2008) cuantificaron uno de los taninos presentes en *J. dioica*, específicamente el ácido elágico, reportando una concentración de 0.81 mg g^{-1} de planta por lo que puede ser considerada como una importante fuente alternativa de dicho compuesto debido a sus propiedades relacionadas a la salud, como acciones antiesteroescleróticas, propiedades anticarcinogénicas resultando en una reducción de cáncer de colon humano, próstata, cervical, lengua, esófago y piel y con propiedades en la industria alimentaria como agente antioxidante.

A pesar de que esta planta contiene ácido elágico, se podría suponer que éste no es uno de sus compuestos principales debido a las bajas concentraciones en las que se encuentra.

Propiedades antifúngicas

J. dioica han sido muy poco estudiada como fungicida de hongos fitopatógenos, siendo principalmente usada en microorganismos causantes de enfermedades

de humanos; Silva–Belmares *et al.* (2014), probaron extractos de *J. dioica* con hexano, etanol y acetona como solventes, contra diversos microorganismos como *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*; y observaron que los extractos hexánicos fueron los que presentaron mayor actividad y espectro microbicida atribuido a la presencia de β -sitoesteroles, además se ha demostrado que extractos acuosos de la raíz ejercen una actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* (BDMTM, 2009b). Finalmente Salas (2013) observó que extractos del tallo de *J. dioica* tuvieron un efecto positivo sobre *F. oxysporum* al controlar la severidad e incidencia en plantas de tomate.

***Agave lechuguilla* Torr**

Clasificación taxonómica

A. lechuguilla pertenece a la familia Agavaceae, es comúnmente conocido como lechuguilla, y es considerado una especie indicadora del desierto chihuahuense. Se encuentra presente desde el sureste de Nuevo México y el oeste de Texas hasta los estados mexicanos de Guanajuato e Hidalgo. La planta acumula nutrientes durante su periodo de crecimiento y muere después de la floración dejando una biomasa abundante en celulosa (Gentry, 1982).

Hábitat y distribución en México

La lechuguilla se desarrolla en climas secos de zonas áridas y semiáridas. El clima de la lechuguilla corresponde al BWh, que corresponde al más árido, templado, con verano cálido, y la precipitación varía de 150 a 500 mm anuales. Esta especie puede soportar períodos de sequía de varios años, así como inundaciones; logra crecer en temperaturas que van desde los 30°C hasta -3°C y en un extremo de -8 a 44°C (Pulido, 2004; Blando y Baca, 2001) La lechuguilla es una planta rústica que prospera en terrenos secos áridos y montañosos (Zapién, 1981).

Crece generalmente sobre suelos calizos, calcáreos rocosos y arcillosos. Su mejor adaptación se presenta en suelos coluviales someros de sierras y lomeríos, pedregosos, de origen calizo, entre un pH de 7.2 y 8.5, con drenaje moderado (Berlanga *et al.*, 1992). Villarreal y Maiti (1989) refieren que las plantas de lechuguilla se desarrollan con más vigor en suelos pedregosos, pobres en materia orgánica y con pendientes pronunciadas, señalan que en las partes altas de los cerros se localizan plantas con mayor vigor, pero en menor abundancia.

Por lo regular las poblaciones naturales se encuentran entre los 950 y 2,300 m.s.n.m., Silva y Eguiarte (2003), mencionan que en el gradiente latitudinal las condiciones del ambiente influyen en el desarrollo de la especie, por lo que hacia el norte, la especie tiene un menor tamaño y hacia el sur, el tamaño es mayor.

En México se localiza en la parte norte abarcando los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luís Potosí, Zacatecas y en la parte centro, en los estados de Hidalgo, Estado de México así como en menor proporción en Oaxaca, denominándose así a toda esta región semidesértica como la altiplanicie mexicana (Marroquín *et al.*, 1981; Nobel y Quero, 1986)

Descripción botánica

La lechuguilla es un arbusto pequeño, acaule, con hojas dispuestas en forma de roseta, de 11 a 50 hojas, su tamaño puede variar, entre 30 a 40 cm de ancho y de 20 a 70 de altura (Reyes *et al.*, 2000; Eufrazio, 1992; Sheldon, 1980). Sin embargo, se pueden encontrar individuos con alturas superiores de 85 cm como es el caso de las poblaciones de Jaumave y Tula en el estado de Tamaulipas y Arramberri en Nuevo León. Tiene raíces largas, fibrosas, delgadas, que se extienden a una profundidad entre 8 y 12 cm del suelo (Nobel y Quero, 1986).

Composición fitoquímica

Las hojas y raíces de la lechuguilla contienen dos saponinas esteroidales (25R)-spirost-5-ene-2 α ,3 β -diol (yucagenina) y (25R)-5 β -spirostane-3 β ,6 –diol (ruizgenina) (Blunden et al., 1980); de igual forma Palmar *et al* (1992) reportan que en el género *Agave* se encuentra presente el flavonoide aguamanona. Hernández *et al.*, (2005) identificaron distintos compuestos bioactivos, en los que destacaron las saponinas y esteroides; a los que se les atribuyen efectos antifúngicos, antimicrobianos y antiinflamatorios. De igual manera Santos *et al.*, (2012) identificaron compuestos fenólicos (polifenoles) con actividad antioxidante, antiinflamatorios, antimicrobianos y probióticos.

Propiedades antifúngica

Se han realizado diversos estudios para evaluar la actividad antifungica de *A. lechuguilla* sobre diversos microorganismos, teniendo resultados prometedores. Almanza (2004), observó una inhibición del 74% en el crecimiento de *Rhizoctonia solani* al usar un extracto etanólicos de *A. lechuguilla* a una concentración de 10%. De igual manera Pérez-Hernández (2010), observó una inhibición del 100% al usar extractos etanólicos de *A. lechuguilla* sobre el crecimiento de *R solani*. Finalmente Jasso de Rodríguez *et al.* (2011), mencionan que extractos etanólicos y hexánicos de de *A. lechuguilla* presentaron un efecto antifúngico sobre *R. stolonifer* inhibiendo al 100% el crecimiento

***Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch**

Clasificación taxonómica

C. illinoensis pertenece a la familia Juglandaceae y es nativa del sur de estados unidos y del norte de México (Hancock, 1997).

Hábitat y distribución en México

C. illinoensis crece y se desarrolla en un clima húmedo. El mínimo de precipitación anual que tolera es aproximadamente 750 mm, mientras que el máximo se ubica en el orden de los 2000 mm. Durante la estación de crecimiento deben producirse por lo menos 500 mm de precipitación. La temperatura media del verano puede alcanzar por lo menos hasta 27°C, con valores extremos entre 41 y 46°C. La temperatura media del invierno varía entre -1 y 10 °C con extremos entre -18 y -29°C (Peterson, 1990). En las temporadas con registros de lluvia menores a 750 mm, expresarían bajo crecimiento y calidad (Sierra *et al.*, 2001).

El nogal necesita largo períodos libre de heladas, entre 180 a 220 días desde que comienza la brotación en primavera hasta la madurez de los frutos en otoño (Casaubon, 2007). Los requerimientos de frío invernal fluctúan entre 400 a 800 horas bajo 7.2 °C. El suelo es un factor esencial para el cultivo del nogal pecanero. La especie prefiere suelos profundos, permeables y sueltos, de textura media (Franco-Limosos; Franco arcillo-arenosos; Areno-limosos), bien drenados y ricos en nutrientes. El pH óptimo se ubica entre 5,5 a 6, con un rango aceptable de hasta 7. Sin embargo la presencia de alto contenido de carbonato de calcio en el suelo puede provocar fitotoxicidad en las hojas y síntomas de falta de hierro (Lemús, 2004). Los suelos poco profundos dificultan el desarrollo radical de estos árboles, retienen poca cantidad de agua y suelen ser poco fértiles, dando lugar a árboles de baja altura y con deformaciones, tornándose además muy vulnerables al ataque de plagas y enfermedades (Casaubon, 2007).

Acorde con su distribución geográfica natural los nogales han sido cultivados en la zona norte de la república Mexicana, principalmente en el estado de Chihuahua donde de acuerdo con registros del Anuario estadístico de la producción agrícola del SIAP desde 1985 se ha cultivado más del 50% del total del área a nivel nacional (SIAP, 2016). El cultivo a nivel nacional del nogal pecanero, impulsado por el incremento de la demanda internacional, ha

experimentado un crecimiento acelerado al casi triplicar su área sembrada en los últimos 30 años, los estados con mayor incremento en el área sembrada han sido Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango y Nuevo León (Suarez-Jacobo *et al.*, 2016)

Descripción botánica

El nogal es una planta angiosperma dicotiledónea leñosa de hábito arbóreo de 30 a 45 m de alto y 2 m de diámetro, caducifolio con hojas compuestas sésiles imparipinnadas, con foliolos opuestos de 5 a 10 cm de largo, donde cada hoja puede tener entre 9 y 17 foliolos de borde aserrado, la distribución de las hojas es alterna, el color es variable entre Amarillo-verde en el cultivar “desirable” al extremo oscuro de “Pawnee”. El nogal pecanero es una fanerógama diclinomonica con flores unisexuales, de amentos erectos de estambres las masculinas y péndulos de estigmas las femeninas, con dicogamia y polinización anemófila. Su fruta es drupáceo, monospermo dehiscente con endocarpio endurecido (Burns & Honkala, 1990; Wagner, Vendrame; Hazel, 2005).

Composición fitoquímica

Diversas evidencias indican la presencia de moléculas bioactivas, tales como esteroides y tocoferoles, y un alto contenido de compuestos fenólicos totales con posible actividad antioxidante (Do Prado *et al.*, 2009). Un importante grupo de compuestos fenólicos presentes en vegetales son taninos, metabolitos secundarios de plantas, los cuales pueden ser encontrados en forma condensada o hidrolizada. Estas moléculas son de gran interés medicinal y nutricional debido a su potente actividad antioxidante (Santos-Buelga y Scalbert, 2000).

Dependiendo de la parte analizada de la planta se pueden encontrar diferentes principios activos; en las hojas, naftoquinonas (juglona, plumbagina, betahidroplumbagina); en el pericarpio, ácidos orgánicos, taninos y naftoquinonas; en los cotiledones, ácidos grasos insaturados; en el tegumento polifenoles y taninos; y en la nuez, vitamina A,B,C y E, sales minerales y yodo

(Raissouni, 2005). Por su parte Sasaki 1964, reporta que el ruezno del nogal contiene azaleatin (quercitina 5-metil éter y el flavonol caryatin (quercetina 3,5 dimetil éter).

Propiedades antifúngicas

Existe evidencia de actividad antimicrobiana de extractos de cáscara de nuez. En reciente investigación realizada por Do Prado *et al.* (2014), utilizando extractos con elevado contenido de compuestos polifenólicos y taninos condensados, y significativa actividad antioxidante (DPPH^{•-}, ABTS^{•-}) obtenidos por infusión, infusión con secado por aspersion e hidro alcohólicos han demostrado actividad antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahemolyticus* y *Bacillus cerus*. Los tres extractos evaluados en las pruebas de mínima concentración inhibitoria y mínima concentración bactericida demostraron acción antimicrobiana y bactericida contra estos microorganismos relacionados con enfermedades causadas por alimentos. En otra investigación realizada por Osorio *et al.* (2010), los extractos polifenólicos de cáscara de nuez pecanera obtenidos vía etanólica fueron probados contra hongos patógenos de plantas. Se evaluaron ocho especies patogénicas entre las que se encontraban *Pythium sp.*, *Colletotrichum truncatun*, *C. coccodes*, *Alternaria alternata*, *F. verticillioides*, *F. solani*, *F. sambucinum* y *R. solani*. Los extractos de nuez pecanera tuvieron un efecto fungistático contra *A. alternata*, *F. solani* y *F. verticilloides*, mientras que exhibieron un efecto fungicida contra *Pythium sp.*, *C. coccodes*, *C. truncatun*, *F.sambucinum* y *R. solani*, lo que demuestra que la cáscara de nuez representa un subproducto atractivo en la producción de extractos con un amplio espectro de actividad antibacteriana y antifúngica.

Extractos de *Bacillus* spp. Como Fungicidas

La antibiosis se refiere a la producción, por parte de un microorganismo, de sustancias tóxicas que inhiben o destruyen estructuras de la pared celular o atacan diferentes mecanismos celulares importantes en los organismos

sensibles. En el caso de las bacterias antagonistas que producen antibióticos como las iturinas, bacilomicinas y micosubtilinas (Stein, 2005), estas disuelven o dañan polímeros estructurales de pared celular en la mayoría de los hongos fitopatógenos; tales como quitina y β -1-3-glucanos, produciendo un efecto adverso sobre su desarrollo y diferenciación (Goldman *et al.*, 1994; Michel, 2006).

Para el caso de bacterias antagonistas del género *Bacillus*, se ha encontrado que existe la producción de una amplia variedad de sustancias tóxicas, que sustentan el uso de este género como un poderoso agente de control biológico. De acuerdo con el estado actual de conocimiento, se sabe que hay varios mecanismos que pueden explicar el desarrollo de las plantas por bacterias que existen en la rizósfera. Uno de los aspectos principales de esta estimulación es sin duda, la supresión de las enfermedades causadas por fitopatógenos (Toure *et al.*, 2004). Se ha detectado que *Bacillus subtilis*, el representante más común de este género, tiene amplias propiedades de supresión *in vitro* de más de 23 tipos de fitopatógenos, debido a su capacidad para producir una gran abundancia de antibióticos (Stein, 2005).

Composición química de extractos de *Bacillus* spp.

El género *Bacillus* spp. es un grupo de bacterias que producen una gran variedad de metabolitos secundarios. Entre las especies que producen estas sustancias se encuentran *B. subtilis*, *B. amyloliquefacien* y *B. licheniformis*, entre otros. Dentro de los metabolitos secundarios que produce *B. subtilis* y que tienen un efecto fungicida se encuentra las subtilinas (Astorga, *et al.*, 2013), itaurina A, surfactina, fengicina (Yesid y Ligia, 2012), lipasas, proteasas y beta-glucanasas (Tejero *et al.*, 2011).

Una fracción importante de los antibióticos producidos por *B. subtilis* son lipopéptidos de la familia de la iturina, que muestran una potente actividad antifúngica y suprime el crecimiento de una amplia gama de fitopatógenos (Toure *et al.*, 2004). Las iturinas son producidas por *B. subtilis* y generalmente

por otras especies del mismo género como *B. amyloliquefaciens* (Suoto *et al.*, 2004). El grupo de las iturinas comprende las bacilomicinas D, F y L, iturinas A-E y las micosubtilinas (Stein, 2005).

Todas estas moléculas interrumpen la formación de la membrana plasmática, por la formación de pequeñas vesículas y por la liberación de electrolitos de alto peso molecular que degradan fosfolípidos (Maget-Dana y Peypoux, 1994). La sobreproducción de micosubtilina, uno de los miembros más conocidos de la familia de las iturinas, por el género *Bacillus*, tiene importantes propiedades antagónicas frente a hongos fitopatógenos como *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum* y *Pythium aphanidermatum* (Leclere *et al.*, 2005). El momento óptimo de crecimiento para la obtención de micosubtilina, ocurre durante la transición entre el crecimiento exponencial y el inicio de la fase estacionaria, que es cuando se observa una producción máxima de esta molécula (Toure *et al.*, 2004).

Uso de *Bacillus* spp. como agente de biocontrol

La eficacia de organismos antagonistas contra hongos fitopatógenos ha sido demostrada en condiciones de campo para el biocontrol de enfermedades fungosas en cultivos de frijol (Baker *et al.*, 1983, Baker *et al.*, 1985), vid (Ferreira *et al.*, 1991) y otros. Las bacterias esporuladas del tipo *Bacillus* spp. son efectivas para inhibir el desarrollo de hongos como *F. oxysporum*, *F. roseum*, *R. solani*, *Phytophthora capsici*, *P. cactorum*, *Alternaria solani*, *A. alternata*, *Sclerotium cepivorum* y *Uromyces appendiculatus*, entre muchos otros (Baker *et al.*, 1985; Pusey, 1989; Jiménez *et al.*, 2001).

Una de las especies de bacteria que más ha mostrado actividad antifúngica es *B. subtilis*, es una bacteria aeróbica, gram positiva que se encuentra generalmente en el suelo, entre sus principales usos agrícolas destacan el control de hongos fitopatógenos. Dentro de los fitopatógenos que controla se encuentran varias especies de *Fusarium* y *R. solani* (Tejero *et al.*, 2011). Se han realizado investigaciones probando el efecto antifúngico de extractos de *B. subtilis* contra hongos fitopatógenos; de esta forma se encontró que extractos

de *B. subtilis* que contenían itaurina A y surfactina, afectaron e inhibieron el crecimiento de *Colletotrichum* sp. (Ragazo *et al.*, 2011); de igual forma Sarti y Miyasaky (2013), probaron extractos crudos de *B. subtilis* contra *F. solani* y *Phytium* sp., y observaron una disminución en el crecimiento y desarrollo de los hongos, debido a metabolitos con actividad antifúngica.

Además, algunos autores indican que ciertas especies de *Bacillus* spp. promueven el desarrollo de las plantas debido a la síntesis de auxinas, y etileno (Shipper *et al.*, 1987; Glick, 1995; Van Veen *et al.*, 1997). Ejemplo de esto es la promoción de crecimiento que tiene *B. subtilis* sobre las plantas mediante la fijación de nitrógeno, por la producción de la enzima nitrogenasa; la solubilización del fósforo, mediante la producción de ácidos orgánicos como mecanismos de solubilización; y la producción de fitohormonas (Tejero *et al.*, 2011). Aunado a esto se ha comprobado que es una bacteria que no tiene efecto tóxico sobre el ser humano, lo que la hace una buena opción para su uso como fungicida agrícola. De igual forma produce auxinas y giberelinas que son fitohormonas promotoras de crecimiento (Rodríguez, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

Extractos Vegetales

Colecta de plantas

Las plantas fueron colectadas durante el mes de Enero del 2016, en el municipio de General Cepeda, Coahuila, México, cerca de la carretera estatal 105, localizada en 25°21'40.55'N y 101°28'08.68''O a 1507 m.s.n.m., y se depositaron en bolsas de plástico negras para su traslado al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). En el laboratorio las plantas se lavaron con agua corriente, y se separaron hojas, tallo y raíz, de acuerdo a la especie: para *L. tridentada* solamente se utilizaron las hojas, para *L. graveolens* se separaron hojas y tallos, para *J. dioica* se separaron tallos y raíces, para *A. lechuguilla* se separaron hojas y raíces y de *C. illinoensis* solamente se utilizó el ruezno de la nuez. Posteriormente se colocaron en una estufa de secado a 60°C hasta que presentaron un peso constante. Finalmente, cada planta se trituró con un molino para granos y nixtamal (Surtek México) luego se pasaron por una licuadora marca Mabe; y finalmente se tamizaron con un tamiz de 0.2 µm. para obtener partículas muy pequeñas las cuales se guardaron en recipientes oscuros hasta su uso.

Preparación de los extractos de plantas

Los extractos se prepararon de acuerdo a el método reportado por Shami *et al.* (2003), con algunas modificaciones, utilizando como solventes agua y etanol al 96%, se prepararon dos tipos de extracto; crudo y resuspendidos. Para esto primero se pesaron 42 g del polvo de cada planta y se les agregó 750 mL del solvente en frasco oscuros de 1 L; se colocaron en una parrilla de agitación (Thermo Scientific) durante 72 h con agitación constante a una temperatura de 50 °C durante 72 h. El extracto obtenido se filtró con papel filtro Whatman No. 1; y de esta forma se obtuvieron extractos crudos. En el caso de los extractos resuspendidos el solvente se separó mediante un rotavapor (IKA RV 10) a 150 RPM, a temperaturas de 70°C y 90°C para extractos etanólicos y acuosos,

respectivamente después del rota vapor se colocaron en una estufa de secado a 50°C durante 15 días, hasta que se secaron y se pudieron pulverizar.

Identificación de los fitoquímicos presentes en los extractos acuosos y etanólicos de plantas

Para identificar los fitoquímicos presentes en los extractos, se usaron los extractos acuosos y etanólicos en polvo, se prepararon a una concentración de 1000 mg/L; las pruebas fueron cualitativas por colorimetría. Los fitoquímicos que se identificaron fueron: Alcaloides (Prueba de Dragendorf y Sonneschain); Carbohidratos (Prueba de Molisch's); Glicósidos cianogénicos (Prueba de gringnard); cumarinas (Prueba de Fehling's y de Benedict); flavonoides (Prueba de Shinoda y de NaOH); Azúcares reductores (Prueba de Feling y Benedict); Saponinas (Prueba de Espuma); Esteroles y Terpenos (Prueba de Liberman-Burchard y Rhosenthalert); Almidón soluble (KOH y H₂SO₄); polisacáridos (Prueba de lugol); Taninos (Prueba de Gelatina y FeCl₃, K₃[Fe(CN)₆]); Quinonas (Prueba de Hidróxido de amonio y Borntraguer); Purinas (Prueba de HCL) y Carotenoides (H₂So₄ y FeCl₃). Todas estas pruebas se realizaron siguiendo los métodos reportados por señaladas por Sahgal *et al.* (2009) y Usman *et al.* (2009).

Metabolitos de *Bacillus* spp.

Obtención de cepas de *Bacillus* spp.

Se usaron seis cepas de *Bacillus* obtenidas de la colección microbiológica del laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la UAAAN, estas fueron reactivadas en medio KB. Las cepas estaban identificadas hasta nivel género, por lo que se llevó a cabo su identificación hasta nivel especie realizando pruebas bioquímicas propuestas por Schaad (2001).

Preparación de los metabolitos secundarios de *Bacillus* spp.

Se preparó un preinóculo en caldo de papa para el cual se cocieron 350 g de papa en un litro de agua, se filtró el caldo y se le agregó 3.5 g de extracto de levadura, 3.5 g de extracto de malta, 15 g de azúcar y 0.1 g de cloruro de calcio. El caldo se separó en seis matraces con 50 mL de caldo cada uno; y cada uno se inoculó mediante una asada bacteriana, enseguida los matraces se colocaron en agitación durante cuatro días a 150 rpm y finalmente se ajustó la concentración a 1×10^8 UFC. Posteriormente se prepararon seis matraces con 50 mL cada uno y se les agregó 1 mL del preinóculo; se colocaron nuevamente a las mismas condiciones y pasados los cuatro días se filtraron los metabolitos usando un filtro milipore de 0.2 μm . De esta forma se obtuvo un extracto con metabolitos secundarios al 100 % de concentración.

Obtención e Identificación de la Cepa de *F. oxysporum*

La cepa de *F. oxysporum* empleada en los bioensayos se obtuvo de plantas de tomate Saladette variedad Rio grande con síntomas de marchitamiento vascular, localizadas en el campo de cultivo del bajío de la UAAAN. Pequeños trozos de raíces de plantas con síntomas de la enfermedad, se desinfectaron con una solución de cloro al 3 % durante 3 min, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril tres veces y se dejó secar sobre papel sanita estéril en una cámara de transferencia. Una vez secos se colocaron en cajas petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) (Sigma Aldrich), y se incubaron por tres días a 28°C. Finalmente el aislamiento se realizó mediante cultivos monospóricos. La identificación morfológica se realizó mediante la observación al microscopio de las estructuras, utilizando las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006).

Actividad Antifúngica de los Extractos de Plantas y de los Metabolitos Secundarios de *Bacillus* spp. *in vitro*

Pruebas *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de plantas vs *F. oxysporum*

La metodología utilizada fue mediante la técnica de microdilución en placa adaptada de las técnicas propuestas por Masoko *et al.* (2005) y Gabrielson *et al.* (2002). Los tratamientos que se usaron fueron los siguientes: extractos crudos y resuspendidos; etanólicos y acuosos de hojas y raíz de *A. Lechugilla*, hojas de *L. Tridentata*; tallo y raíz de *J. dioica*, hojas y tallo de *L. graveolens* y ruezno de *C. illinoensis* (Cuadro 1). Se usó una placa para cada solvente y para cada tipo de extracto. Para esto se usaron microplacas de poliestireno de 96 pozos; el arreglo de los diferentes tratamientos y concentraciones se puede observar en la Figura 1.

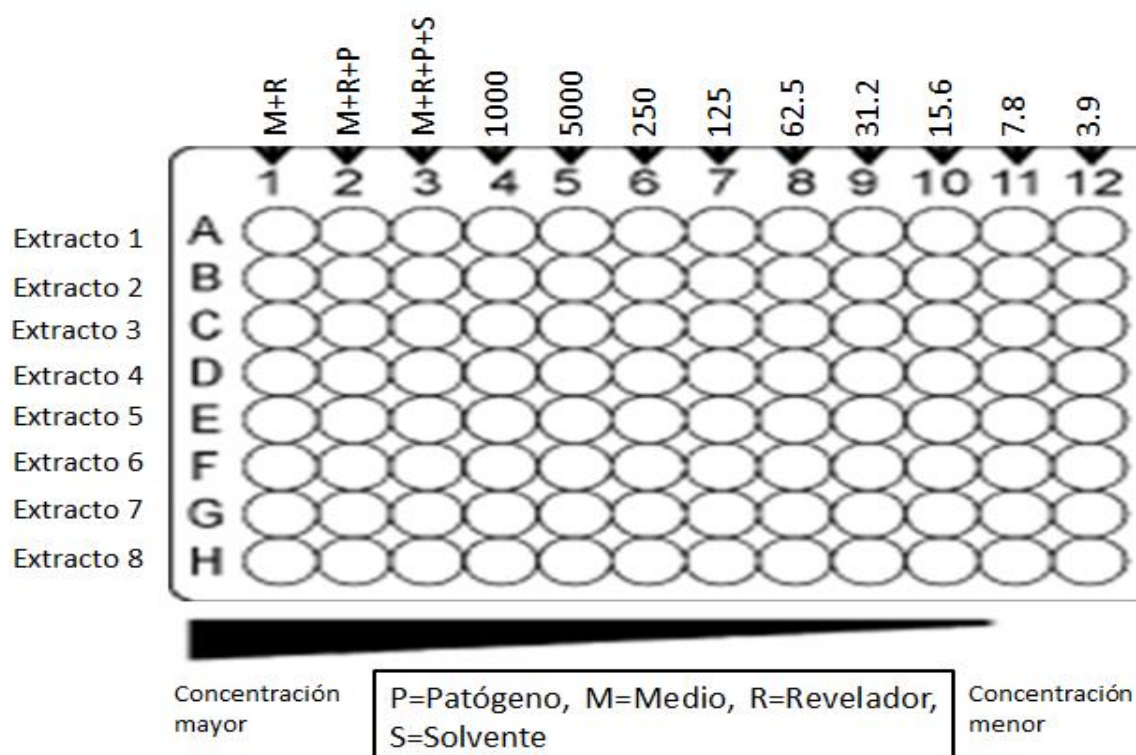


Figura 1. Arreglo de los extractos de plantas y concentraciones en la placa de 96 pozos.

Cuadro 1. Tratamientos empleados para determinar su actividad antifúngica contra *F. oxysporum* mediante el método de microdilución en placa

Extractos			
Acuosos		Etanólicos	
Crudos	Resuspendidos	Crudos	Resuspendidos
1. <i>L. tridentata</i> hoja	1. <i>L. tridentata</i> hoja	1. <i>L. tridentata</i> hoja	1. <i>L. tridentata</i> hoja
2. <i>A. Lechuguilla</i> hoja	2. <i>A. Lechuguilla</i> hoja	2. <i>A. Lechuguilla</i> hoja	2. <i>A. Lechuguilla</i> hoja
3. <i>A. Lechuguilla</i> raíz	3. <i>A. Lechuguilla</i> raíz	3. <i>A. Lechuguilla</i> raíz	3. <i>A. Lechuguilla</i> raíz
4. <i>J. dioica</i> tallo	4. <i>J. dioica</i> tallo	4. <i>J. dioica</i> tallo	4. <i>J. dioica</i> raíz
5. <i>J. dioica</i> raíz	5. <i>J. dioica</i> raíz	5. <i>J. dioica</i> raíz	5. <i>C. illinoensis</i> ruezno
6. <i>C. illinoensis</i> ruezno	6. <i>C. illinoensis</i> ruezno	6. <i>C. illinoensis</i> ruezno	6. <i>L. graveolens</i> tallo
7. <i>L. graveolens</i> tallo	7. <i>L. graveolens</i> tallo	7. <i>L. graveolens</i> tallo	7. <i>L. graveolens</i> hoja
8. <i>L. graveolens</i> hoja	8. <i>L. graveolens</i> hoja	8. <i>L. graveolens</i> hoja	

El procedimiento para realizar el bioensayo fue el siguiente:

1. Se colocaron 100 µl de medio líquido sabouraud en todos los pozos de la placa.
2. Se preparó una solución de cada extracto a una concentración de 2000 mg/L, en el caso de los extractos acuosos se usó como solvente agua y en el caso de los etanólicos se utilizó etanol; posteriormente se colocaron 100 µl de los extractos preparados a 2000 mg/L en la columna cuatro, se mezclaron y se volvió a tomar 100 µl, y se transfirieron a la columna cinco, y así sucesivamente realizando diluciones seriadas al 50 % hasta

la columna 12, teniendo como resultado concentraciones de 1000 mg/L, 500 mg/L, 250 mg/L, 125 mg/L, 62.5 mg/L, 31.2 mg/L, 15.6 mg/L, 7.8 mg/L y 3.9 mg/L.

3. El siguiente paso fue agregar 40 µl de 2,3,5- cloruro de trifeniltetrazolio como revelador de crecimiento a todos los pozos.
4. Finalmente a partir en la columna dos a todos los pozos se les colocó 10 µl de una solución de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de 1×10^8 .

Cada placa se consideró una repetición, y se realizaron tres repeticiones por tratamiento; se incubaron a 28°C por 48 h y finalmente se realizó una lectura de absorbancia a 490 nm en un espectro fotómetro Multiskan Go (Thermo Scientific). Se consideró crecimiento positivo del hongo a los tratamientos donde el pozo presentó un color rosado y negativo a los que no presentaron ningún color, además de sus respectivos valores de absorbancia.

Pruebas *in vitro* de la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios de *Bacillus* spp. vs *F. oxysporum*

El bioensayo para determinar la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios de *Bacillus* spp. se realizó mediante la misma técnica de micro dilución en placa con placas señalada anteriormente. Los tratamientos fueron seis cepas de *Bacillus* spp.; BAN1, BAN2, BAN3, BAN4, BAN5 y BAN6. En este caso la concentración inicial obtenida después del filtrado se consideró al 100 % por lo tanto al realizar las microdiluciones seriadas al 50% en la placa las concentraciones obtenidas fueron de 50 %, 25 %, 12.5 %, 6.25 %, 3.1 %, 1.5 %, 0.75 %, 0.37 % y 0.18 %; el arreglo de los tratamientos y las concentraciones se puede ver en la Figura 2.

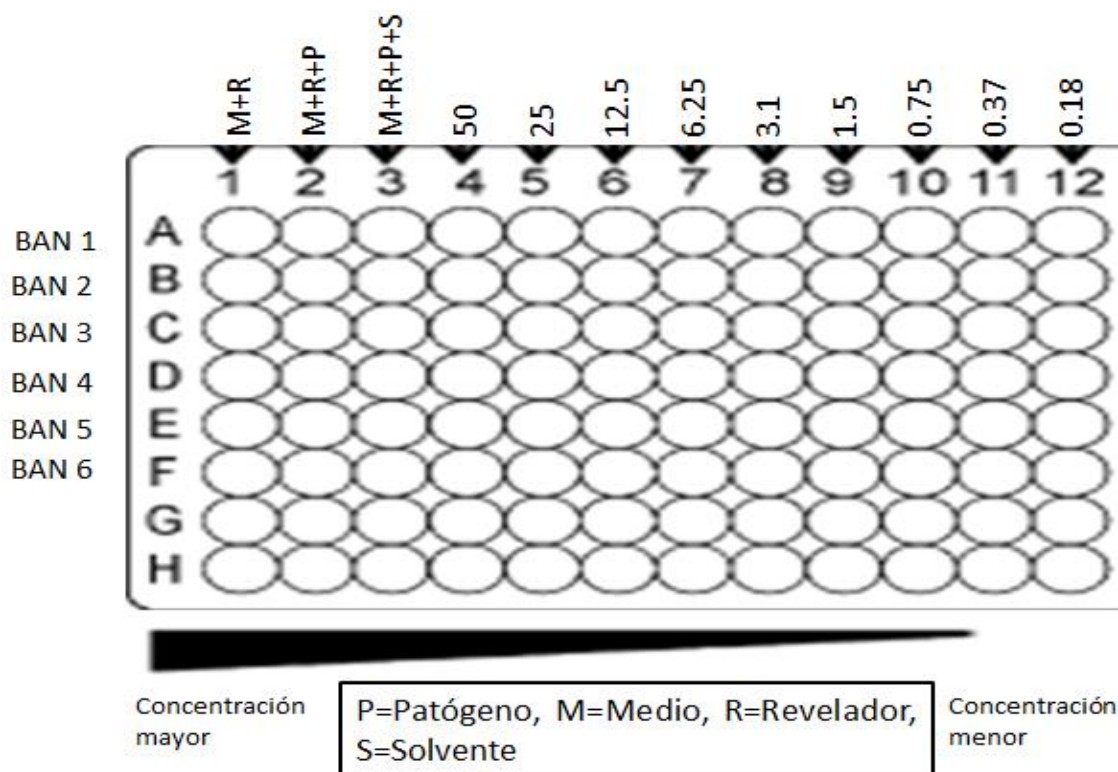


Figura 2. Arreglo de los extractos de metabolitos secundarios de *Bacillus* spp. y concentraciones en la placa de 96 pozos.

Porcentaje de inhibición.

Se tomó el promedio de las tres repeticiones para realizar el análisis del porcentaje de inhibición, este fue calculado tomando en cuenta que la inhibición es el inverso del crecimiento y los resultados fueron calculados mediante las siguientes fórmulas (Moreno-Limon *et al.*, 2011):

$$\% \text{ de crecimiento} = (A-B/C) (100)$$

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento}$$

A=Absorbancia tratamiento

B=Absorbancia testigo negativo

C=Absorbancia testigo Positivo

Calculo de la concentración inhibitoria al 50 % (CI₅₀)

Se realizó un análisis Probit usando software SAS V9.0. para determinar la concentración inhibitoria al 50 % de cada extracto. Finalmente las CI₅₀ se analizaron mediante un análisis de varianza, las pruebas se establecieron en relación a la comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$) con tres réplicas por muestra.

Efectividad Biológica de Extractos de Plantas *in vivo* Bajo Condiciones de Invernadero

Establecimiento del experimento en invernadero

El experimento *in vivo* se llevó a cabo en invernaderos de la empresa Green Corps Biorganiks de México S.A. de C.V., ubicada al norte de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, en las coordenadas 25° 26' 48" N y 100° 59' 11" O. El experimento se realizó durante el ciclo otoño-invierno del 2016. Se utilizó un medidor de temperatura y humedad marca Hobo, con este se pudo registrar que la temperatura mínima durante el ensayo fue de 1.1 °C, la máxima de 41°C, y la temperatura promedio fue de 20 °C; en el caso de la humedad relativa la mínima fue de 15 %, la máxima fue de 100 % y la humedad promedio fue de 62%.

Material vegetativo

Se utilizaron plantas de tomate tipo Saladette variedad Rio Grande, estas fueron utilizadas 30 días después de la siembra y presentaban una altura de 15 cm aproximadamente al momento del trasplante.

Sustrato

Se prepararon bolsas de plástico negras de cuatro kilos, a estas se les agregó 3 kg del sustrato; este consistió en 50 % tierra y 50 % peat moss. El sustrato utilizado para el experimento se esterilizó previamente.

Diseño experimental

Se estableció un diseño completamente al azar con siete tratamientos y seis repeticiones. Los tratamientos con extractos vegetales utilizados en este experimento fueron los que tuvieron el mejor porcentaje de inhibición en el experimento *in vitro*; de igual forma se tomó en cuenta cuales eran residuos agroindustriales que se podían obtener fácilmente, finalmente también se decidió usar solamente extractos resuspendidos ya que estos presentaron mayor estabilidad que los extractos crudos. En el Cuadro 2 se pueden apreciar los tratamientos utilizados en este experimento. Todos los datos de las variables evaluadas se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Duncan ($\alpha=0.05$).

Cuadro 2. Tratamientos empleados para determinar su efectividad biológica contra *F. oxysporum* bajo condiciones de invernadero.

	Tratamientos	Concentración
T1	<i>L. graveolens</i> tallo	125 mg/L
T2	<i>L. graveolens</i> hoja	500 mg/L
T3	<i>A. lechuguilla</i> hoja	250 mg/L
T4	<i>C. illinoensis</i> ruezno	250 mg/L
T5	Testigo químico (Benomil)	1 g/L
T6	Testigo inoculado	1×10^6
T7	Testigo absoluto	-

Inoculación y trasplante

Las plántulas de los tratamientos T1 al T6 fueron inoculadas antes del trasplante. Para esto, se les realizó un corte transversal de la parte apical de las raíces y posteriormente se colocaron por un minuto en una solución de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de 1×10^6 , enseguida las plantas se colocaron en las macetas previamente humedecidas.

Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos se aplicaron mediante bombas aspersoras de 1 L marca Truper®. Se realizaron tres aplicaciones, la primera se realizó durante el trasplante antes de colocar las plántulas en las macetas directamente en el hoyo donde se colocó la plántula, para esto una vez que se preparó el hoyo se asperjó tres veces; las otras aplicaciones se realizaron a los 15 y 40 días después de la primera aplicación, estas se realizaron directamente en la base del tallo y de igual forma se asperjaron tres veces.

Riego y fertilización

Este procedimiento se realizó mediante fertirrigación, para esto se preparó una solución nutritiva; los componentes de esta solución se pueden ver en el Cuadro 3. El riego se realizó mediante un sistema de riego por goteo, y este se llevó a cabo cada dos días.

Cuadro 3. Composición de la solución nutritiva utilizada para fertirrigación de tomate (Solución de Steiner)

Macro elementos	Cantidad /400 L de agua
Nitrato de Potasio	175.1 g
Nitrato de Calcio	94.9 g
Sulfato de Potasio	37.3 g
Nitrato de Magnesio	14.8 g
Micro elementos quelatados ULTRASOL®	26.7 g
Ácido Fosfórico	20.2 mL
Ácido Nítrico	76.7 mL

Entutorado

Cuando las plantas alcanzaron los 20 cm de altura estas fueron guiadas con un solo tallo, por lo que se les amarró rafia alrededor del tallo, y esta a su vez se amarró en el techo para tensarla y de este modo permitir que las plantas crecieran verticalmente y así evitar su caída por el peso del follaje o de los frutos.

Poda de tallos

Se realizó la poda de tallos axilares con la finalidad de que la planta se mantuviera a un solo tallo; el procedimiento se realizó cuando los brotes axilares estaban en un estado tierno con la finalidad de evitar maltratar la planta.

Control de plagas y enfermedades.

Para determinar la presencia de plagas insectiles se colocaron trampas pegajosas amarillas y azules; y para la presencia de enfermedades, se monitoreaban las plantas cada siete días. De este modo se observó la presencia de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en el caso de insectos, y de *Alternaria solani* en el caso de enfermedades. Para el control de estas se aplicaron los productos orgánicos Entomax 5x2® y Best ultra F®.

Variables evaluadas

Para este experimento se evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad, tanto en follaje como en raíz de las plantas. De igual forma, se evaluaron variables agronómicas, estas fueron: peso seco de la biomasa aérea y de la raíz, número de frutos, peso de frutos, altura de planta, longitud de raíz, diámetro de tallo y clorofila en hojas.

Incidencia

Se consideró que una planta presentaba la enfermedad cuando empezó a manifestar los síntomas y se le asignó una escala de la severidad. De esta forma la incidencia fue el porcentaje de plantas enfermas en cada tratamiento. Para esto se usó la siguiente fórmula:

Incidencia= (No. De plantas enfermas/No. Total de plantas) (100)

Severidad de follaje

Esta variable se comenzó a medir cuando aparecieron los primeros síntomas en las plantas como amarillamiento de las hojas más antiguas y plantas con retraso en el crecimiento, para esto se utilizó la escala propuesta por Marlatt *et al.* (1996) la cual se mide en un rango del 1 al 5, donde:

- 1= Sin síntomas
- 2= Clorosis ligera
- 3= Clorosis moderada y marchitamiento
- 4= Clorosis severa y marchitamiento
- 5= Muerte de la planta

Severidad de raíz

La severidad en la raíz se midió al final del ensayo; se utilizó la escala propuesta por Manzano *et al.* (2016), para esto se tomaron las raíces y se lavaron con agua corriente para limpiarles la tierra, posteriormente se observaron y se les asignaron valores del 0 al 3, donde:

- 0=Sin síntomas
- 1=Lesiones café moderadas en raíces secundarias y raíces principales
- 2=Putrefacción severa en raíz principal
- 3=Muerte o casi muerte de planta

Peso seco de la biomasa aérea y de raíz (g)

Se midió al final del ensayo, para esto se separó la parte aérea de las raíces, y posteriormente se cortaron en trozos más pequeños, se metieron en bolsas de papel y se colocaron en una estufa de secado a 50 °C durante 3 días, pasado ese tiempo se procedió a pesarlas con una báscula digital Scot Pro marca Oahus con capacidad de 6000 g.

Altura de planta (cm)

Se midió cada 15 días usando una cinta métrica de 2 m de alcance, para la medición se tomó en cuenta desde la superficie del sustrato hasta el punto de abscisión de la última hoja emergida.

Longitud de raíz (cm)

La longitud de raíz se midió al final del ensayo; para esto las raíces se lavaron con agua para quitar el exceso de tierra, posteriormente se utilizó una cinta métrica de 2 m de alcance, se midió desde el cuello del tallo donde empieza la raíz, hasta el otro extremo de las raíces.

Diámetro de tallo (mm)

Esta variable se midió utilizando un vernier digital cada 15 días, se tomó el tallo a un centímetro del sustrato y se procedió a ajustar el vernier al tallo y se tomó la lectura.

Clorofila en hojas (Unidades SPAD)

Para medir la cantidad de clorofila en hojas se utilizó un medidor de clorofila SPAD 502 marca Minolta, para esto se seleccionó una hoja de la parte inferior y se procedió a tomar la medida de la clorofila.

Número y peso de frutos (g)

La cosecha de frutos se realizó al final del ensayo, para el número de frutos se contó la cantidad de frutos por planta; en el caso del peso de frutos, se pesaron todos los frutos de una planta juntos en una balanza analítica Scot Pro marca Ohaus.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fitoquímicos Identificados en los Extractos Acuoso y Etanólicos de Plantas

Los fitoquímicos identificados se muestran en los Cuadros 4 y 5. Los extractos de hojas de *L. tridentata* etanólico y acuoso presentaron flavonoides, saponinas y glucósidos cianogénicos; en el caso de los extractos de *A. lechuguilla* tanto en hojas como en raíces se identificaron saponinas triterpenoides y esteroidales, así como taninos; para *J. dioica* se observó la presencia de quinonas, cumarinas, flavonoides, saponinas, taninos, carbohidratos y azúcares reductores; en *C. illinoensis* tanto en el extracto acuoso y etanólico se identificaron taninos, flavonoides y quinonas; finalmente en los extractos de *L. graveolens* se observaron taninos, cumarinas, flavonoides como flavonones, flavononas y flavonas. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Martins *et al.* (2012, 2013) quienes observaron los mismos componentes fitoquímicos en extractos de *L. tridentata*. En *A. lechuguilla* Sidana *et al.* (2016) observaron más de 141 saponinas esteroidales de interés farmacológico y Castillo *et al.* (2010) reportaron la presencia de taninos. En extractos de *J. dioica* Martínez *et al.* (2014), señalaron la presencia de quinonas, cumarinas, flavonoides, saponinas, taninos, carbohidratos y azúcares reductores para extractos acuoso y etanólico de raíz de sangre de drago. En el caso de extractos acuoso y etanólico de raíz de *C. illinoensis* según lo reportado por Bottari *et al.* (2017) contienen compuestos como taninos y flavonoides, sin embargo también se ha identificado la presencia de quinonas según lo reportado por Xiang-Ming (2009), siendo similar a los compuestos identificados en este trabajo. Finalmente en extractos acuoso y etanólico de hoja y tallo de *L. graveolens* Hernández-Castillo *et al.* (2010) mencionan la presencia de taninos, Cruz *et al.* (2011) cumarinas y Güereca *et al.* (2007) flavonoides como flavonones, flavonas y flavononas.

Cuadro 4. Fitoquímicos identificados en extractos acuosos

	A	C	F				GC	AZ		S		T				Q			Cu	P	Ca	
			F1	F2	F3	F4		Az1	Az2	S1	S2	T1	T2	T3	T4	Q1	Q2	Q3				
<i>L. tridentata</i> hoja	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. lechuguilla</i> hoja	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>A. lechuguilla</i> raíz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>C. illionensis</i> ruezno	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. graveolens</i> hoja	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>L. graveolens</i> tallo	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>J. dioica</i> raíz	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>J. dioica</i> tallo	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-

+ = Fitoquímico presente, - = Fitoquímico ausente ; A= Alcaloides, C=Carbohidratos, F=Flavonoides, GC= Glucósidos Cianogenicos, AZ= Azucares Reductores, S= Saponinas, T= Taninos, Q= Quinonas, Cu= Cumarinas, P= Purinas, Ca= Carotenoides, F1= Flavonones, F2= Flavonas, F3= Flavononas, F4= Chalconas, Az1= , Az2, S1= Triterpenoides, S2= Esteroidal, T1= Gelatina, T2= Derivados Acido Galico, T3= Derivados Catecoles, T4= Fenoles, Q1= Antraquinonas, Q2= Benzoquinonas, Q3= Antronas

Cuadro 5. Fitoquímicos identificados en extractos etanólicos

	A	C	F				GC	AZ		S		T				Q			Cu	P	Ca	
			F1	F2	F3	F4		Az1	Az2	S1	S2	T1	T2	T3	T4	Q1	Q2	Q3				
<i>L. tridentata</i> hoja	+	-	+	+	+		+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	
<i>A. lechuguilla</i> hoja	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. lechuguilla</i> raíz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. illionensis</i> ruezno	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. graveolens</i> hoja	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>L. graveolens</i> tallo	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
<i>J. dioica</i> raíz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>J. dioica</i> tallo	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+

+ = Fitoquímico presente, - = Fitoquímico ausente; A= Alcaloides, C=Carbohidratos, F=Flavonoides, GC= Glucósidos Cianogenicos, AZ= Azucares Reductores, S= Saponinas, T= Taninos, Q= Quinonas, Cu= Cumarinas, P= Purinas, Ca= Carotenoides, F1= Flavonones, F2= Flavonas, F3= Flavononas, F4= Chalconas, Az1= , Az2, S1= Triterpenoides, S2= Esteroidal, T1= Gelatina, T2= Derivados Acido Galico, T3= Derivados Catecoles, T4= Fenoles, Q1= Antraquinonas, Q2= Benzoquinonas, Q3= Antronas

Identificación Bioquímica de las Cepas de *Bacillus* spp.

Los resultados de las pruebas bioquímicas (Schaad, 2001) se presentan en el Cuadro 6. Considerando estos resultados, se determinó que la especie de las cepas BAN2 y BAN3 corresponde *B. licheniformis*, y que las cepas BAN1, BAN4, BAN5 y BAN6 corresponden a la especie *B. subtilis*.

Cuadro 6. Identificación bioquímica de las diferentes cepas de *Bacillus* spp.

Prueba	Bs	Bl	BAN1	BAN2	BAN3	BAN4	BAN5	BAN6
Motilidad	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 45°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a pH 5.7	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento NaCl 7 %	+	+	+	+	+	+	+	+
Utilización de citrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidación/Fermentación	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrolisis de Almidón	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Xilosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Prueba de Voges	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	+
Peroxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento anaerobio	.	+	-	+	+	-	-	-

Bs= *Bacillus subtilis*; Bl=*Bacillus licheniformis*; Prueba positiva= +; Prueba negativa= -

Identificación Morfológica de *F. oxysporum*.

La característica macroscópica observada del aislamiento fungoso fue un micelio abundante y de color morado; en el caso de las características microscópicas se observaron macroconidias muy abundantes con una longitud de 38.5 μm y un grosor de 3.72 μm , un poco curvadas, la parte apical cónica en forma de gancho, pared celular delgada y tres septos; las microconidias se

observaron ovaladas sin septos y abundantes en el micelio aéreo, estas descripciones corresponden a la especie *F. oxysporum* (Leslie y Summerell, 2006).

Actividad Antifúngica de los Extractos de Plantas y de Metabolitos Secundarios *in vitro*, Sobre el Crecimiento de *F. oxysporum*

Actividad antifúngica de extractos acuosos de plantas sobre *F. oxysporum*

En general en los extractos acuosos, la actividad antifúngica fue menor que la observada los extractos etanólicos. Para los extractos acuosos crudos se puede observar en la Figura 3, que el porcentaje de inhibición aumenta conforme aumenta la concentración de los extractos sin embargo, el porcentaje de inhibición que se alcanzó no fue superior al 50 %. Los tratamientos que presentaron mejor actividad antifúngica fueron los extractos de *A. lechuguilla* hoja, *J. dioica* tallo y *L. graveolens* hoja, ya que desde la concentración más baja de 3.9 mg/L fueron los tratamientos que mostraron una mayor inhibición en comparación a los demás tratamientos. Estos tratamientos presentaron su mayor actividad antifúngica al llegar a la concentración de 31.2 mg/L y se mantuvieron con el mismo porcentaje de inhibición hasta la concentración de 1000 mg/L con 46.74 %, 37.66 % y 48.01 % respectivamente.

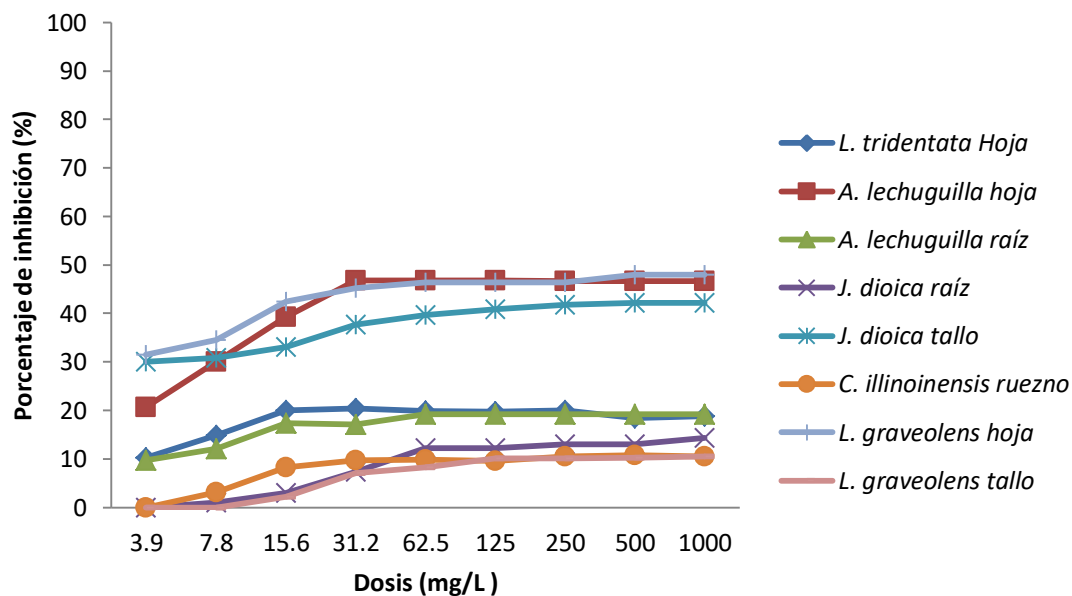


Figura 3. Porcentaje de inhibición de extractos crudos acuosos de plantas sobre *F. oxysporum*.

En los extractos resuspendidos acuosos se observó (Figura 4) un porcentaje de inhibición mayor sin embargo, no superó el 60 %. En este caso se pudo observar que el tratamiento que presentó un efecto sobre el crecimiento del patógeno desde la concentración de 3.9 mg/L fue el de *A. lechuguilla* raíz con 41.96 % alcanzando su mayor porcentaje de inhibición a las 1000 mg/L con 53.15 %; otro tratamiento que presentó actividad antifúngica desde la concentración más baja fue *A. lechuguilla* hoja; sin embargo, no tuvo porcentaje de inhibición alto conforme aumentó la concentración. Finalmente el tratamiento que tuvo el mayor porcentaje de inhibición fue *L. graveolens* tallo, ya que aunque a concentraciones bajas no presentó buena actividad, fue el que mostró la mayor inhibición con 60 % a la concentración de 1000 mg/L.

La baja actividad antifúngica observada puede deberse al tipo de solvente utilizado, ya que por lo general los extractos a base de agua aunque pueden tener en su estructura fitoquímica compuestos con actividad antimicrobiana como taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides etc.; tienden a estar menos

concentrados en comparación a los extractos obtenidos con solventes hidroalcohólicos (REDSA, 2017).

En este trabajo también se observó que el agua como solvente ocasionó que la mayoría de los extractos tuvieran presencia de carbohidratos, lo que podría ser una causa de que la actividad antifúngica baja, ya que estos compuesto sirven de nutrientes a los patógenos (Noguera, 1980); aun así, se observó que los extractos acuosos de *A. lechuguilla*, *L. graveolens* y *J. dioica* fueron los que presentaron mayor actividad antifúngica. De acuerdo a los fitoquímicos identificados en este trabajo, esto puede deberse a que estos extractos aunque en menor concentración contienen saponinas, taninos y flavonoides los cuales son compuestos con actividad antimicrobiana.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Carvalho *et al.* (2011), quienes probaron extractos acuosos de *Jatropha curcas* y observaron que controló el hongo *A. alternata* en un 46 %; Méndez *et al.* (2011) también mencionan un porcentaje de inhibición del 60 % con extractos acuosos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla* sobre diferentes bacterias que sobreviven en los alimentos, sin embargo; difieren a los reportados por Hernández-Castillo *et al.* (2010) quienes al probar extractos acuosos de *L. graveolens* observaron un porcentaje de inhibición no mayor al 20 % sobre *Rhizoctonia solani*; y con los reportados por Castillo *et al.* (2010), que al realizar ensayo con extractos acuosos de *A. lechuguilla* sobre *R. solani* reportaron que el extracto no presentó ningún efecto en la inhibición del patógeno.

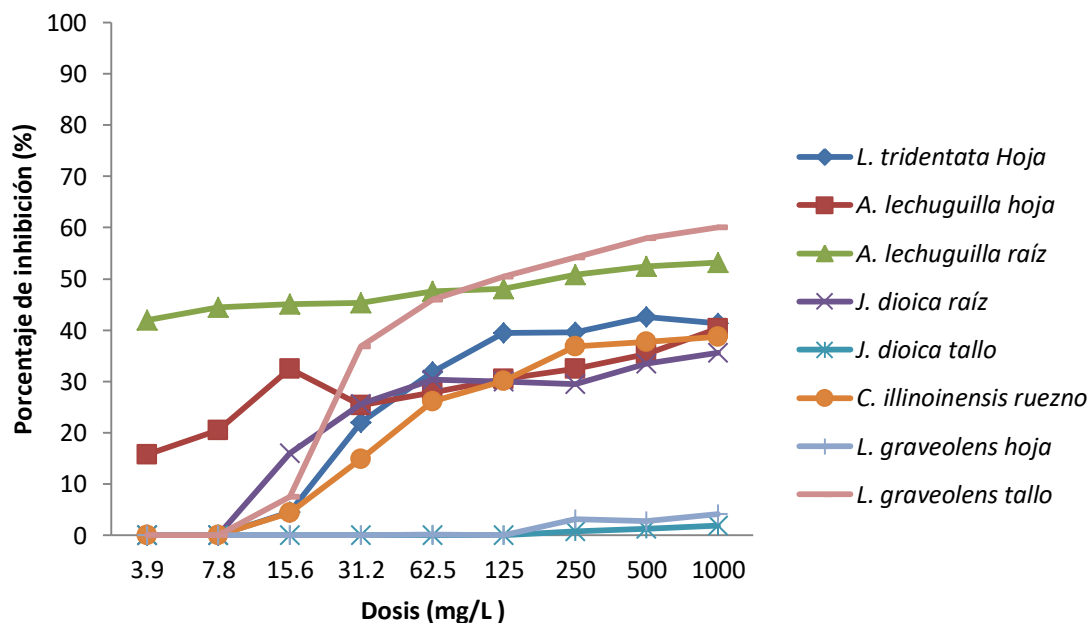


Figura 4. Porcentaje de inhibición de extractos resuspendidos acuosos de plantas sobre *F. oxysporum*.

Actividad antifúngica de extractos etanólicos de plantas sobre *F. oxysporum*

En los extractos etanólicos, tanto en los crudos como en los resuspendidos, se observó un aumento en la actividad antifúngica en relación a los extractos acuosos., En la Figura 5 se puede observar, que todos los tratamientos a excepción del tratamiento de *L. tridentata* hoja presentaron porcentaje de inhibición superior al 90 % en concentración de 500 mg/L, sin embargo; los tratamientos de *C. illinoensis* ruezno, *L. graveolens* hoja y *L. graveolens* tallo fueron los que presentaron mejor actividad antifúngica, ya que desde la concentración más baja de 3.9 mg/L tuvieron un porcentaje de inhibición mayor en comparación a los demás tratamientos; esta tendencia se siguió observando conforme aumentó la concentración, alcanzando a inhibir el patógeno al 100 % en la concentración de 250 mg/L.

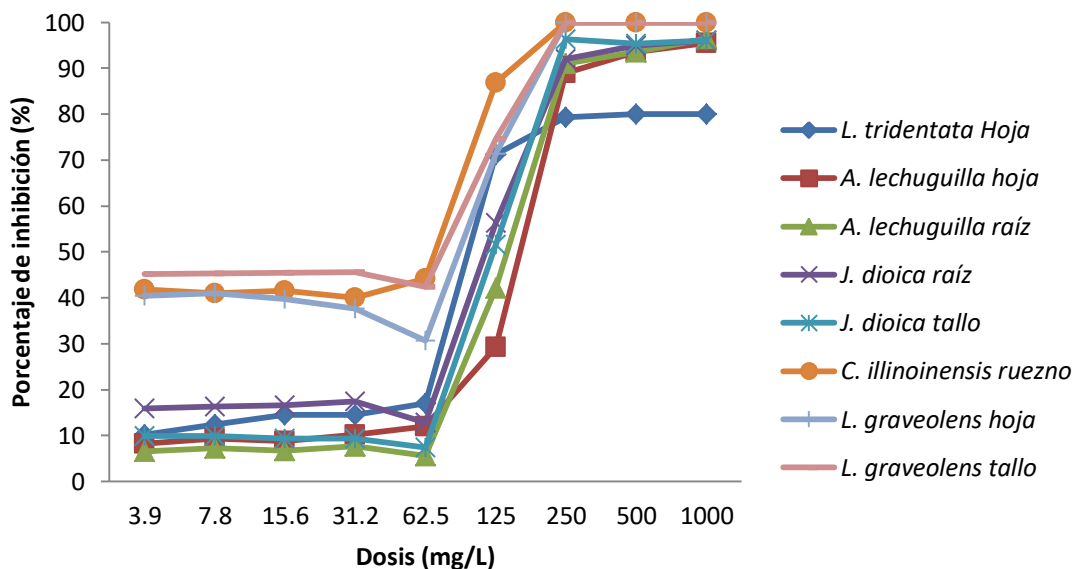


Figura 5. Porcentaje de inhibición de extractos crudos etanólicos de plantas sobre *F. oxysporum*

En relación al experimento que se realizó con extractos etanólicos resuspendidos, se observa en la Figura 6 que el mejor porcentaje de inhibición a la concentración de 3.9 mg/L fue por el extracto de *L. graveolens* tallo con 50 % el cual fue el mejor hasta la concentración de 125 mg/L en la que alcanzó el 100 % de inhibición. A este le siguió el extracto de *L. graveolens* hoja que a la concentración más baja mostró inhibición del 41.19 %, y alcanzó el 100 % a la concentración de 500 mg/L. Finalmente los extractos de *A. lechuguilla* hoja y raíz también presentaron inhibición del 100 % a la concentración de 250 mg/L. En el caso de los extractos restantes los porcentajes de inhibición fluctuaron entre 60 % y 90 % en la concentración más alta.

En ambos casos tanto en extractos etanólicos crudos y resuspendidos, se observó que los extractos de *A. lechuguilla*, *L. graveolens* y *C. illinoensis* fueron los que presentaron mayor actividad antifúngica. El análisis fitoquímico mostró que los extractos de estas especies contienen compuestos con actividad antifúngica como los alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas; estos afectan a los patógenos de diferentes maneras; en el caso de los alcaloides podría

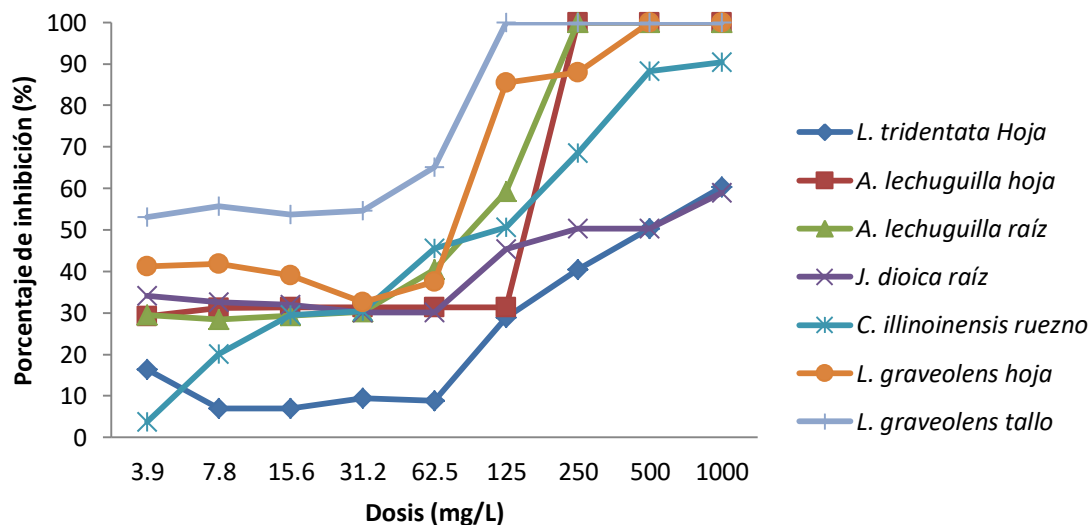


Figura 6. Porcentaje de inhibición de extractos resuspendidos etanólicos de plantas sobre *F. oxysporum*

deberse a la presencia de nitrógeno en su estructura como amina o amida; los flavonoides por la presencia en su estructura de hidroxilos fenólicos que penetran la membrana celular, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos (Ruiton, 1998); los taninos forman complejos con enzimas y otras proteínas provocando la inhibición de sus funciones, por lo que pueden inhibir el transporte de electrones a través de las membranas, y alterar iones como el hierro y el cobre inhibiendo la actividad de algunas enzimas que son esenciales para la vida de los microorganismos (Scalbert and Williamson, 2000); y las saponinas forman complejos con esteroides, proteínas y fosfolípidos de membranas citoplásmicas (Stuardo y San Martín, 2008).

En general los extractos etanólicos presentan alta inhibición debido a que los activos que son arrastrados con este solvente polar poseen alta actividad biológica estos son los polifenoles en el caso de *L. graveolens* y las saponinas esteroidales en el caso de *A. lechuguilla* (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011).

Estos resultados son similares al compararlos con los obtenidos por Hernández *et al.* (2010), quienes reportaron 100 % de inhibición en *R. solani* con extractos etanólicos de *C. illinoensis*, y coinciden con los de Jasso de Rodríguez *et al.* (2011), quienes usaron extractos etanólicos de *A. lechuguilla*, y observaron inhibición del 100 % sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. Sin embargo difieren a lo señalado por Hernández *et al.* (2010), quienes reportaron un porcentaje de inhibición máximo del 60 % en *R. solani* usando extractos etanólicos de *L. graveolens*, y con lo reportado por Méndez *et al.* (2011), quienes observaron que extractos etanólicos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla* presentaron un porcentaje de inhibición de 60 % sobre bacterias de los alimentos. En general el efecto de los extractos en la inhibición de hongos fitopatógenos depende del solvente utilizado para extracción y de la especie de planta de la cual se obtendrá el extracto (Castillo *et al.*, 2011).

Concentración inhibitoria al 50% (CI₅₀) de los extractos de plantas

El análisis de varianza mostró que existieron diferencias significativas en las CI₅₀ (Cuadro 7); para los extractos acuosos crudos, la CI₅₀ más baja la presentó el extracto de *L. graveolens* hoja con 535 mg/L, y en el caso de los extractos acuosos resuspendidos fueron los extractos de *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* raíz con 218 mg/L y 203 mg/L respectivamente; estos resultados concuerdan con lo reportado por Caceres-Rueda de León *et al.* (2013), quienes observaron una CI₅₀ de 200 µg/L con extractos acuosos de *L. graveolens* sobre *F. oxysporum*.

Los extractos etanólicos presentaron CI₅₀ más bajas en comparación a los extractos acuosos (Cuadro 7). Los extractos crudos con la CI₅₀ más baja fueron los extractos de ruezno de *C. illinoensis* y de tallo de *L. graveolens* con 18.06 mg/L y 16.24m /L respectivamente; y en el caso de los extractos resuspendidos los que presentaron mejor CI₅₀ fueron los de hoja y tallo de *L. graveolens* con

Cuadro 7. Concentración CI₅₀ de extractos acuoso y etanólicos para inhibición de *F. oxysporum*.

Extracto	Tipo extracto	CI ₅₀ *	Tipo extracto	CI ₅₀ *	Tipo extracto	CI ₅₀ *	Tipo extracto	CI ₅₀ *
<i>L. tridentata</i> Hoja	C.a.	88075±0.02d	R.a.	673.55508±0.09f	C.e.	108.5±0.21c	R.e.	688.67±0.28a
<i>A. lechuguilla</i> hoja	C.a.	535.3±0.06g	R.a.	13109±0.06c	C.e.	115±0.12a	R.e.	43.53±0.02d
<i>A. lechuguilla</i> raíz	C.a.	253613034 ± 0.03a	R.a.	203.7487±0.06h	C.e.	113.72±0.16b	R.e.	34.74±0.03e
<i>C. illinoensis</i> ruezno	C.a.	9508417±0.03b	R.a.	983.51243±0.09e	C.e.	18.03±0.19g	R.e.	74.36±0.17c
<i>L. graveolens</i> tallo	C.a.	195805±0.07c	R.a.	218.91±0.31g	C.e.	16.24±0.15h	R.e.	8.02±0.16g
<i>L. graveolens</i> hoja	C.a.	702.19±0.03h	R.a.	53047±0.02b	C.e.	23.09±0.22f	R.e.	22.1±0.10f
<i>J. dioica</i> raíz	C.a.	69721±0.04e	R.a.	1821±0.06d	C.e.	75±0.20e	R.e.	434.59±0.06b
<i>J. dioica</i> tallo	C.a.	7875±0.03f	R.a.	83361±0.14a	C.e.	92±0.20d	**	**

Los datos son medias de tres determinaciones, *valores con misma letra son iguales. (Tukey, $\alpha=0.05\%$); C.a.= Crudo acuoso, R.a.= Resuspendido acuoso, C.e.=Crudo etanólico, R.e.= Resuspendido etanólico; **= No se determino

22.10 mg/L y 8.02 mg/L respectivamente; estos resultados difieren a los reportados por Hernández *et al.* (2010), quienes determinaron CI_{50} de 1930 $\mu\text{g/L}$ y 4340 $\mu\text{g/L}$ con extractos etanólicos de *L. graveolens* y *C. illinoensis* respectivamente sobre *R. solani*.

Actividad antifúngica de metabolitos secundarios de *Bacillus* spp. sobre *F. oxysporum*

En este trabajo se observó que las seis cepas de *Bacillus* estudiadas, presentaron actividad antifúngica sobre el patógeno. Las cepas BAN2, BAN3 y BAN4, fueron las que tuvieron mejor porcentaje de inhibición, ya que se observó una inhibición del 80% para BAN2 y BAN3, y del 88% para BAN4 aún en la concentración más baja de 0.15%; esta tendencia se mantuvo conforme aumentó la concentración, alcanzando el 100% de inhibición en la concentración de 3.1%, en las cepas BAN3 y BAN4; la cepa BAN2 alcanzó el 100% de inhibición en la concentración de 6.2%; y finalmente también se observó que la cepa BAN1 alcanzó el 100 % de inhibición en la concentración más alta de 50%.

En este trabajo las especies que presentaron mayor efecto inhibitorio sobre *F. oxysporum* fueron *B. subtilis* (BAN1, BAN4, BAN5 y BAN6) y *B. licheniformes* (BAN2 y BAN3) las cuales protegen las plantas de fitopatógenos a través de numerosos mecanismos en particular a través de la síntesis de diferentes lipopéptidos cíclicos con actividad antifúngica (Hossain *et al.*, 2015). Entre los lipopéptidos que producen *B. subtilis* como parte de su metabolismo se encuentran las surfactinas, fengicinas e itaurinas (Falardeau *et al.*, 2013); y por parte de *B. licheniformes* están las surfactinas (Tendulkar *et al.*, 2007). Todos estos metabolitos presentan diferentes mecanismos de acción para inhibir el crecimiento de fitopatógenos. La fengicina es uno de los que más ha llamado la atención por su baja actividad hemolítica y su alta capacidad antifúngica sobre hongos filamentosos (Wise *et al.*, 2014), se sabe que la fengicina afecta las membranas biológicas del hongo causando formación de poros sin embargo; el mecanismo preciso de acción no ha sido dilucidado por completo (Mora *et al.*,

2011); de este modo la actividad antifúngica de los metabolitos de *Bacillus* puede deberse a la disrupción de las paredes celulares del hongo y a la inhibición en el desarrollo de los conidios.

Otros compuestos segregados por la bacterias antagónicas son las enzimas como las hidrolasas que están relacionadas con la degradación de las paredes celulares de fitopatógenos (Baysal *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2014). Estos resultados no concuerdan con los reportados por Ramyabharathi y Raguchander (2014), que probaron metabolitos secundarios de *B. subtilis* sobre *F. oxysporum* y observaron una inhibición máxima del 46.04%; también difieren de los obtenidos por Sarti y Miyasaki (2013) quienes probaron metabolitos secundarios de *B. subtilis* sobre *F. solani* y observaron una inhibición no mayor del 50%, finalmente tampoco concuerdan con los registrados por Tendulkar *et al.* (2007) quienes mencionaron que metabolitos de *B. licheniformes* alcanzaron una inhibición máxima de 75.70% sobre *F. verticilloides*.

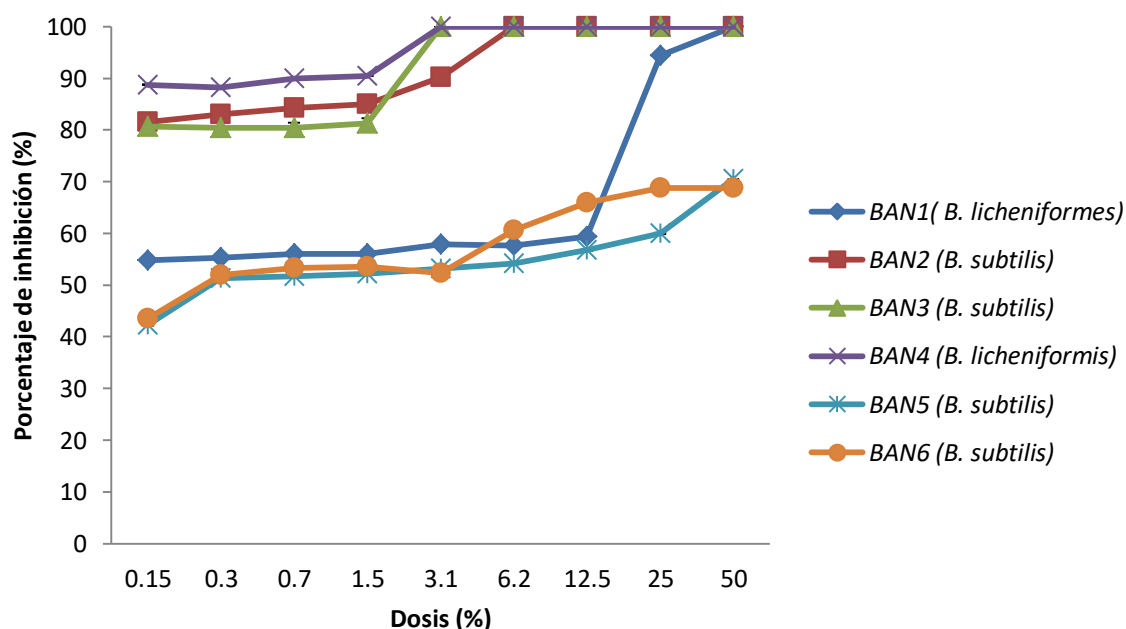


Figura 7. Porcentaje de inhibición de metabolitos secundarios de *Bacillus* spp. sobre *F. oxysporum*.

Efectividad Biológica de los Extractos de Plantas Sobre *F. oxysporum* y Sobre el Desarrollo del Cultivo de Tomate *in vivo* Bajo Condiciones de Invernadero.

Incidencia y severidad de la enfermedad

Los resultados que se observan en la Figura 8 y Cuadro 8 muestran que las plantas con la incidencia y severidad más bajos fueron las tratadas con extractos etanólicos de *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* hoja. En el caso de la incidencia, se observó que no existió diferencia estadística entre los tratamientos, excepto con el testigo absoluto; sin embargo numéricamente los tratamientos de *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* hoja fueron los que presentaron menor incidencia con 91.67% y 88.33% respectivamente, en relación al testigo inoculado que presentó 100% de incidencia. En cuanto a la severidad en follaje, los valores fueron de 2.08 y 2.17 para *L. graveolens* tallo y

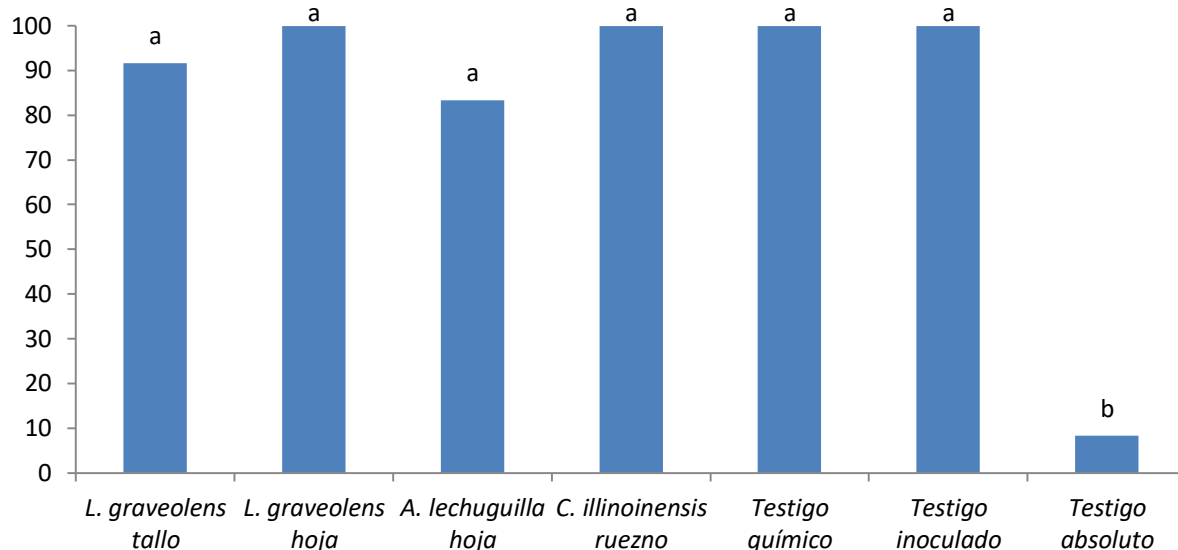


Figura 8. Incidencia en las plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Cuadro 8. Severidad en follaje y raíz en las plantas de tomate por *F. oxysporum* tratadas con extractos vegetales.

Tratamiento	Severidad en follaje*	Severidad en raíz*
T1. <i>L. graveolens</i> tallo	2.08b	0.92a
T2. <i>L. graveolens</i> hoja	2.67ab	1.00a
T3. <i>A. lechuguilla</i> hoja	2.17ab	0.83a
T4. <i>C. illinoensis</i> ruezno	2.58ab	0.92a
T5. Testigo químico	2.58ab	0.83a
T6. Testigo inoculado	2.75a	1.00a
T7. Testigo absoluto	0.25c	0.17b

*Valores con misma letra son iguales

A. lechuguilla hoja, respectivamente, la severidad observada con el tratamiento de *L. graveolens* tallo es estadísticamente menor a la observada en el testigo inoculado. Finalmente en cuanto a la severidad en raíz no se observó diferencia estadística siendo el extracto de *A. lechuguilla* el que presento menor severidad con 0.83 en relación al testigo inoculado el cual presento 1.0 de severidad. En este trabajo se observó que el desarrollo de la enfermedad no fue el óptimo, ya que el testigo inoculado no presento valores altos en cuanto a severidad, lo anterior pudo haber sido causado por las bajas temperaturas que se presentaron durante el ensayo, ya que en promedio se registraron temperaturas de 20 °C (con mínima de 2 °C y máxima de 38 °C) siendo inferior a la temperatura optima reportada para la enfermedad que es de 28 °C (Cook and Baker, 1983).

De acuerdo a la identificación de compuestos fitoquímicos que se determinaron en este trabajo, el extracto de *L. graveolens* tallo pose flavonoides, taninos y saponinas, que podrían ser los que disminuyeron el desarrollo de la enfermedad; estos compuestos también están presentes en las hojas; sin embargo en los tallo es donde podría estar concentrada la mayor cantidad.

El extracto de *A. lechuguilla* hoja contiene compuestos como las saponinas esteroidales (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011) las que al poseer actividad antifúngica también afectarían el desarrollo de la enfermedad ocasionando una disminución en la incidencia; también se considera que la inhibición en la enfermedad pudo deberse al aumento de las actividades de las enzimas defensivas antioxidantes secretadas por la planta de tomate, como la peroxidasa, la catalasa y la súper óxido dismutasa (Villa-Martínez *et al.*, 2015). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gamboa (1997) quien usando extractos acuosos de *Agave lechuguilla*, *Larrea tridentada* y *Chenopodium ambrosoides* para controlar el daño causado por *F. oxysporum* reportaron una disminución en el índice de daño en raíces y follaje de plantas de tomate. Sin embargo difieren a los reportados por Hanaa *et al.* (2011), quienes observaron en plantas de tomate una reducción en la incidencia de la enfermedad de la marchitez causada por *F. oxysporum* de hasta un 30% usando extractos de *Azardiachta indica* y *Salix babylonica*. En este trabajo se pudo observar que en el caso de *L. graveolens* la parte que normalmente se utiliza tanto de manera tradicional como en la preparación de extractos son las hojas, sin embargo; el tallo de *L. graveolens* demuestra ser una fuente potencial de flavonoides que podría contribuir al desarrollo de nuevos compuestos con aplicaciones en agronomía y medicina (Güereca *et al.*, 2007).

Peso seco de la biomasa aérea y altura de planta

El análisis de varianza mostró diferencia significativa en peso seco de la biomasa entre el tratamiento de *A. lechuguilla* hoja en relación al testigo inoculado con 29.40 g y 23.84 g respectivamente, de igual forma se pudo observar que numéricamente las plantas tratadas con los extractos de *L. graveolens* tallo y *L. graveolens* hoja también presentaron efecto positivo en el desarrollo de la biomasa aérea ya que presentaron pesos de 26.53 g y 26.28 g respectivamente, siendo superiores al testigo inoculado; también se observó que el extracto de *C. illinoensis* ruzno tuvo un efecto negativo sobre las plantas ya que ocasionó que estas presentaran menor peso seco.

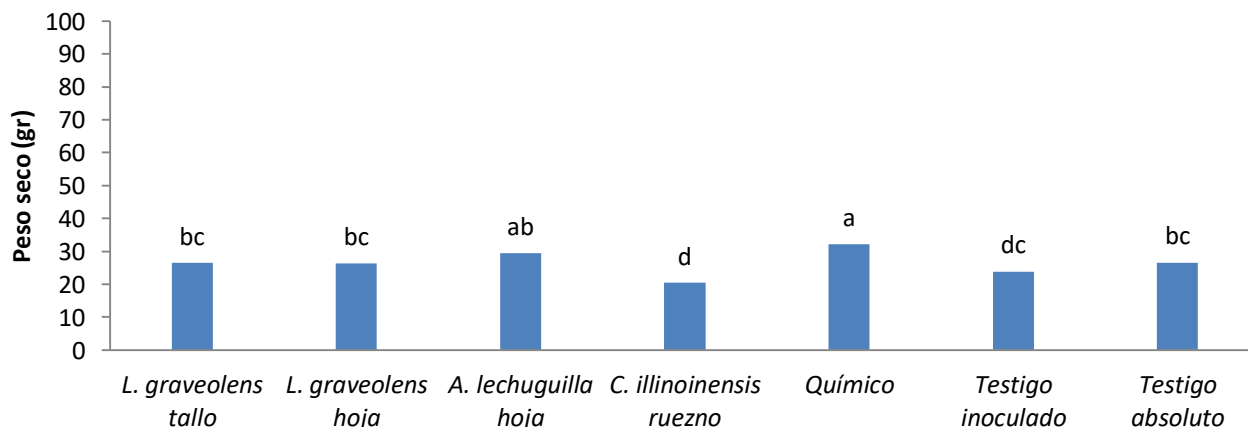


Figura 9. Peso seco de la biomasa aérea de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Para la altura de planta el análisis de datos mostró diferencias estadísticas; todos los extractos vegetales indican estadísticamente mayor altura de planta que la obtenida en el testigo inoculado sin embargo; son las plantas tratadas con los extractos de *L. graveolens* hojas, *A. lechuguilla* hoja y *L. graveolens* tallo las que presentaron mayor altura con 80.58 cm, 71.75 cm y 68.58 cm respectivamente en relación con el valor de 52.17 cm del testigo inoculado. En el caso de las plantas tratadas con el extracto de *C. illinoensis* ruezno se observó que presentaron mayor altura en relación al testigo inoculado sin embargo fueron las de menor altura en comparación a los demás tratamientos.

El mayor peso seco y altura de planta se puede atribuir a la protección que le otorgaron los extractos vegetales a las plantas, los cuales disminuyeron el desarrollo de *F. oxysporum*; considerando el menor desarrollo de las plantas tratadas con el extracto de *C. illinoensis*, Coder (2017), menciona que las plantas de la familia Juglandaceae producen un compuesto llamado juglona la cual tiene efecto alelopático sobre varias especies vegetales entre ellas el tomate, lo que pudo haber causado el retraso observado en el desarrollo de las plantas.

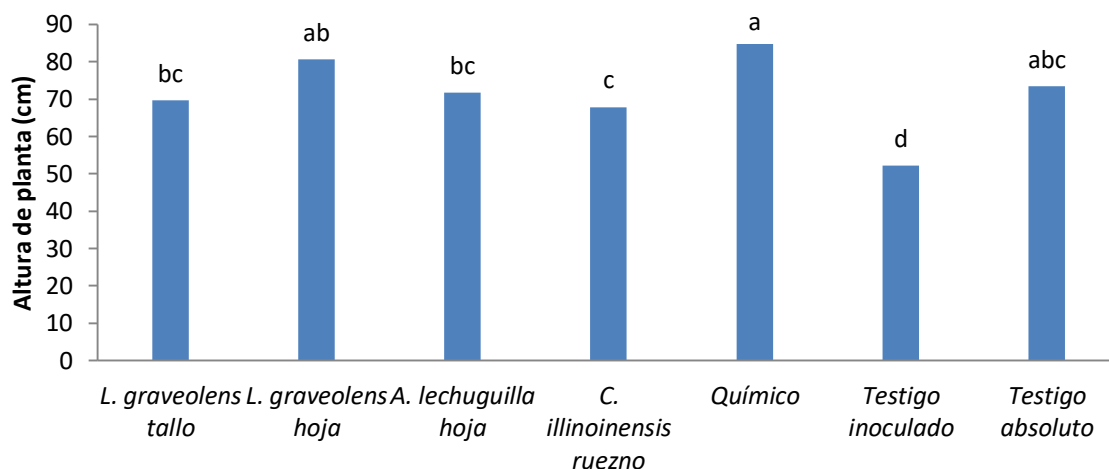


Figura 10. Altura de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Peso seco de raíz y longitud de raíz

El análisis estadístico de peso seco de raíces mostró que no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos con extractos vegetales y el testigo inoculado sin embargo; se observó que numéricamente los extractos de *L. graveolens* tallo, *L. graveolens* hoja y *A. lechuguilla* hoja presentaron un mayor peso seco con valores de 23.97 g, 23.24 g y 23.39 g, respectivamente, siendo estos mayores en relación al testigo inoculado el cual presentó 18.20 g de peso seco de raíz; en el caso de extracto de *C. illinoensis* ruezno se observó que afectó de manera negativa a las plantas ya que presentaron un menor peso seco de raíz.

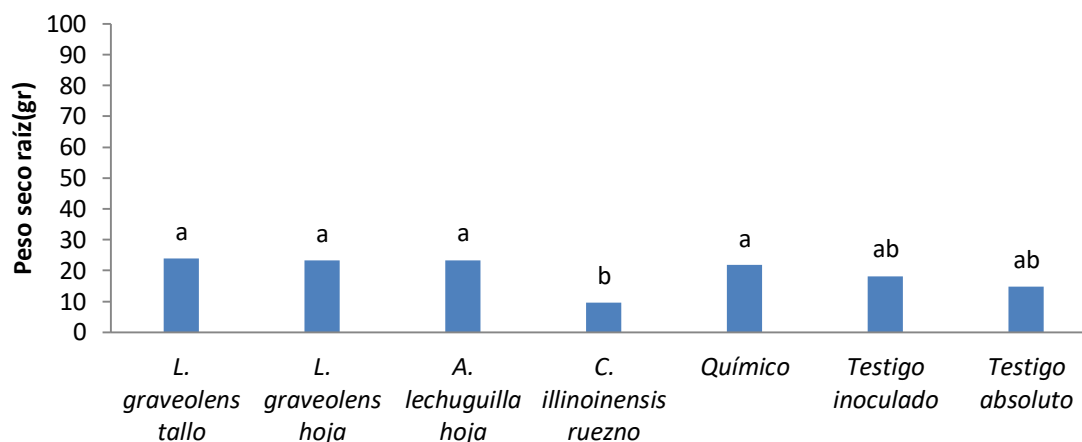


Figura 11. Peso seco de raíz de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

En cuanto a la longitud de raíz, se pudo observar que si se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con extractos vegetales en relación al testigo inoculado el cual tuvo una longitud de raíz de 34.08 cm; de nueva cuenta las plantas tratadas con extractos de *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* hoja fueron las que presentaron mayor longitud de raíces con valores de 55.00 cm, 53.50 cm y 51.42 cm respectivamente; también se observó que el extracto de *C. illinoensis* afecto las raíces disminuyendo la longitud.

Un mayor peso seco y longitud de raíces se puede atribuir a los compuestos fitoquímicos como flavonoides, taninos y saponinas los cuales protegieron al cultivo de *F. oxysporum*. De nueva cuenta el extracto de *C. illinoensis* afectó el desarrollo de la parte radicular ocasionando un menor peso seco y menor longitud de raíz, esto puede ser debido a la presencia del compuesto juglona el cual afecta la germinación, desarrollo y crecimiento de plantas de tomate (Quin *et al.*, 2011).

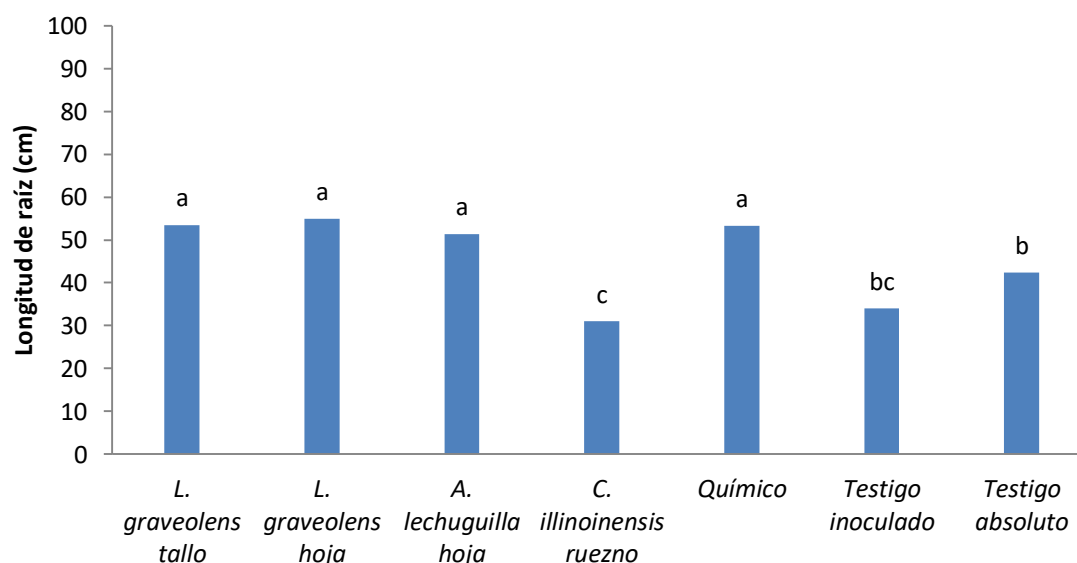


Figura 12. Longitud de raíz de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Diámetro de tallo

Los resultados obtenidos muestran que estadísticamente se obtuvo un mayor diámetro de tallo con el extracto vegetal de *A. lechuguilla* hoja con 10.15 mm mientras que el testigo inoculado presentó un diámetro de tallo de 8.94 mm. A este tratamiento le siguieron los tratamientos de *L. graveolens* tallo y *L. graveolens* hoja con 9.57 mm y 9.40 mm; finalmente también se observó que el extracto de *C. illinoensis* afectó el crecimiento de las plantas teniendo el menor diámetro en el tallo. Un mayor diámetro significa que los fitoquímicos presentes en los extractos afectaron el desarrollo del fitopatógeno y por lo tanto las plantas presentaron un mayor grosor en el tallo.

A mayor diámetro de tallo se incrementa el número de frutos y en consecuencia el rendimiento como lo sustenta Moorby (1981), al mencionar que una mayor área de parénquima implica mayor reserva de asimilados que pueden ser utilizados en el fruto en crecimiento, así como una mayor área de xilema posibilita un mayor transporte de agua y nutrientes hacia los órganos reproductivos.

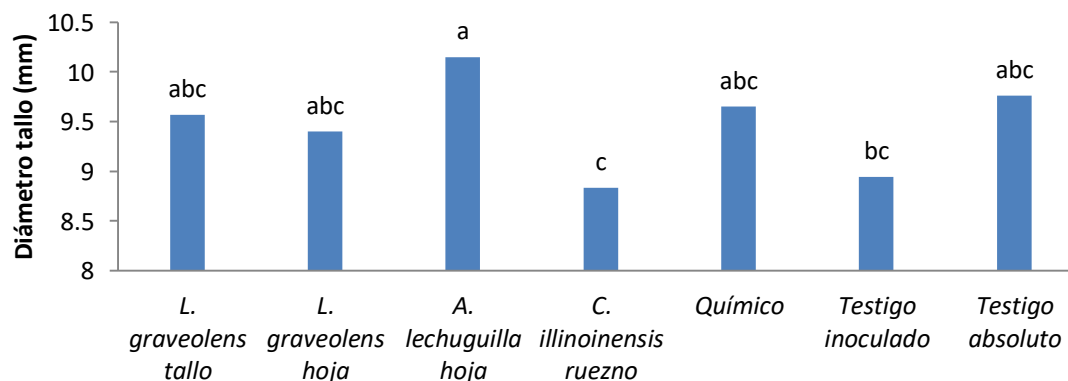


Figura 13. Diámetro de tallo de las plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Clorofila en hojas

Para esta variable el análisis estadístico demostró que sí existió diferencia estadística entre tratamientos; en este caso las plantas que no fueron

inoculadas con el patógeno presentaron la mayor cantidad de clorofila en sus hojas, esto debido a que estuvieron libres de *F. oxysporum* y no sufrieron la clorosis típica de la enfermedad. En el caso de las plantas inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales se observó estadísticamente una mayor cantidad de clorofila por parte de los tratamientos de *A. lechuguilla* hoja, y *L. graveolens* tallo con 18.72 y 16.74 respectivamente, en relación al testigo inoculado el cual presentó 10.89.

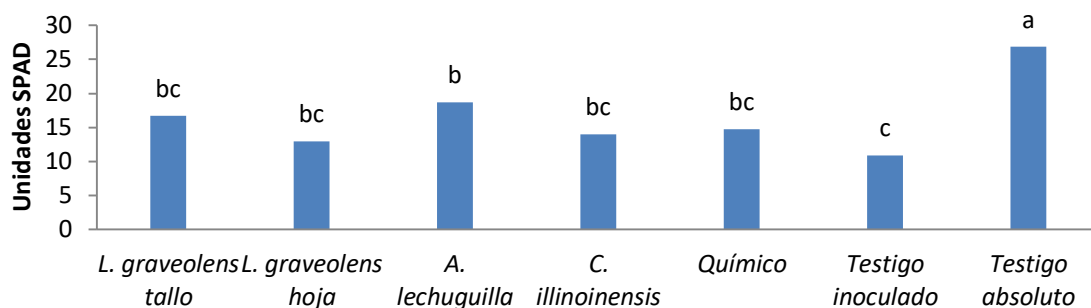


Figura 14. Clorofila en hojas de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

Número y peso de frutos

Para el número de frutos el análisis de varianza mostró que si existió diferencia estadística entre las plantas tratadas con el tratamiento que proporcionó mayor número de frutos y el testigo inoculado el cual presentó el valor de 7.58; este fue el tratamiento de *A. lechuguilla* hoja con 9.17, a este le siguió el tratamiento de *L. graveolens* hoja con 8.17, *L. graveolens* tallo con 7.52 y finalmente *C. illinoensis* ruezno con 5.83.

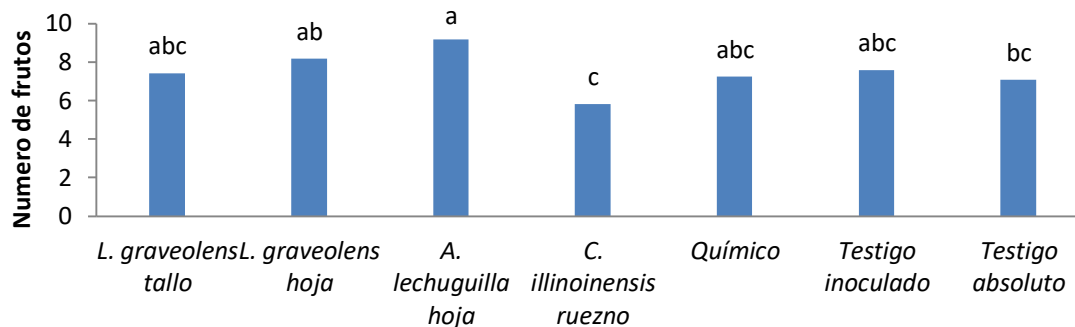


Figura 15. Numero de frutos de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

En el caso del peso de frutos no se observó diferencia estadística entre los tratamientos sin embargo; numéricamente si existieron diferencias respecto al testigo inoculado; los tratamientos que proporcionaron un mayor peso a los frutos fueron *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* hoja con 253.75 g y 248.82 g en relación al testigo inoculado el cual reportó 197.53 g de peso.

En este trabajo se pudo observar que el desarrollo de las plantas de tomate no fue el óptimo, esto se puede ver ya que las variables agronómicas evaluadas no presentaron una diferencia notable en relación al testigo absoluto el cual debió de tener mejor desarrollo de planta y de frutos; esto se pudo ser causado por las bajas temperaturas presentadas en el ensayo ya que en promedio se registraron temperaturas de 20 °C, siendo las temperaturas óptimas para desarrollo de la planta de tomate 25 °C (Almanza-Merchan *et al.*, 2016).

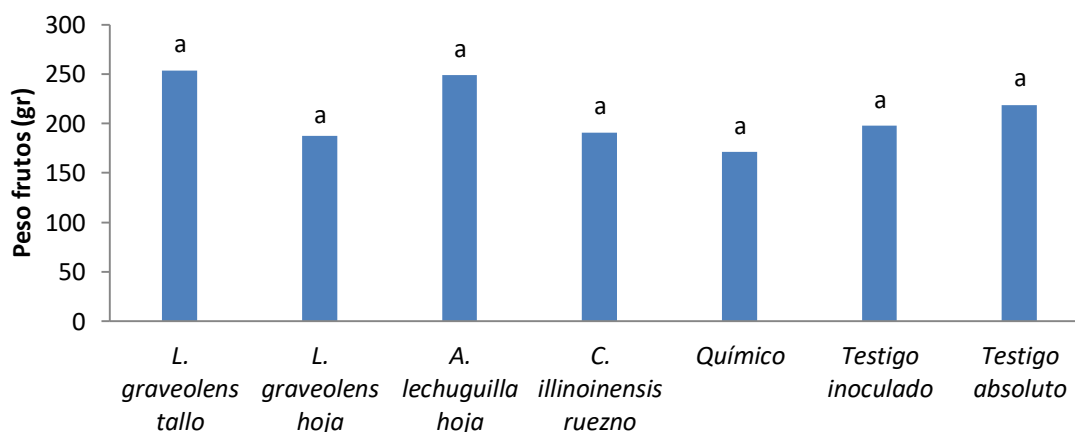


Figura 16. Peso de frutos de las planta de tomate inoculadas con *F. oxysporum* y tratadas con extractos vegetales bajo condiciones de invernadero.

CONCLUSIONES

- Los extractos acuosos en general tuvieron una actividad antifúngica baja ya que no presentaron porcentajes de inhibición superiores al 50%.
- Los extractos etanólicos de *L. graveolens*, *C. illinoensis* y *A. lechuguilla*, tienen una alta actividad antifúngica ya que presentaron porcentaje de inhibición del 100% sobre *F. oxysporum*.
- Las CI_{50} más bajas fueron de extractos etanólicos de *L. graveolens* tallo con 8.02 mg/L, *C. illinoensis* ruezno con 18.03 mg/L y *A. lechuguilla* raíz con 34.74 mg/L.
- Los extractos de *A. lechuguilla* y *L. graveolens* disminuyen la incidencia y severidad de la enfermedad, y tienen efecto positivo en el desarrollo de la planta.
- Las especies de *B. subtilis* y *B. licheniformes* producen metabolitos secundarios que inhiben el desarrollo de *F. oxysporum in vitro*.
- El método de microdilución en placa permite medir la actividad antifúngica de varios tratamientos y concentraciones, con menor tiempo y utilizando menos recursos.
- Se recomienda continuar la investigación con los extractos vegetales y las cepas de *Bacillus* que presentaron los mejores, y realizar mezclas entre estos para lograr obtener un producto biotecnológico.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1995. Fitopatología. Uteha-Noriega: Editorial Limusa. 838pp.
- Aguilera, A. F., Augur, C., Prado, L. A., Aguilar, C. N. and Favela, E. 2008. Extraction and analysis of ellagic acid from novel complex sources. Chemical Papers. 62: 4, 440-444.
- Alanís-Garza, B. A., González-González, G. M., Salazar-Aranda, R., de Torres, N. W., and Rivas-Galindo, V. M. 2007. Screening of antifungal activity of plants from the northeast of Mexico. Journal of Ethnopharmacology, 114(3), 468-471.
- Almanza, P.F.J. 2004. Efecto inhibitorio de extractos vegetales acuosos sobre *R. solani* creciendo "in vitro" y sobre la germinación y desarrollo en plantas de frijol. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 76 pp.
- Almanza-Merchán, P. J., Arévalo, Y. A., Cely, R., Eduardo, G., Pinzón, E. H., Serrano, C., y Antonio, P. 2016. Fruit growth characterization of the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) hybrid Ichiban'grown under cover. Agronomía Colombiana, 34(2), 155-162.
- Amaral, D.O.J., Magalhaes, M., Vilela, L., and Vanusa, M. 2008. Differential gene expression induced by salicylic acid and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* infection in tomato. Pesq Agrop Bras. 43(8): 1017-1023.
- Armstrong, G.M., and Armstrong, J.K. 1981. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Cook, R. (Eds.), *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park, pp. 391–399.
- Arteaga, S., Andrade-Cetto, A. y Cárdenas, R. 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. Journal of Ethnopharmacology 98, 231–239.
- Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S. A., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F., y Gámez-Vázquez, A. J. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Revista mexicana de fitopatología, 26(2), 114-120.
- Astorga-Quiros, K., Meneses-Montero, K., Zuñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J. y Rivera-Méndez, W. 2013. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. Tecnología en Marcha. 27(2): 82-91.

- Badii, M. H., y Varela, S. 2015. Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. CULCyT, (28).
- Baker, C.J., J.R. Stavely, M.S. Thomas, M. Sasser and J.S. McFall .1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73: 1148-1152.
- Baker, C.J., J.R. Stavely and N. Mock .1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease* 69: 770-775.
- Bautista-Baños, S., M. Hernández and E. Bosquez. 2004. Growth inhibition of select fungi by chitosan and plant extracts. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22 (2): 178-186.
- Bautista-Baños, S. 2006. El control biológico en la reducción de enfermedades postcosecha en productos hortofrutícolas: uso de microorganismos antagónicos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 8(1), 1-6.
- Baysal, Ö., Lai, D., Xu, H. H., Siragusa, M., Çalışkan, M., Carimi, F., and Tör, M. 2013. A proteomic approach provides new insights into the control of soil-borne plant pathogens by *Bacillus* species. *PloS one*, 8(1).
- Belmares-Cerda, R. E., Castillo-Godina, R. G. y Aguilar, C. 2008. *Jatropha dioica* sus fitoquímicos ¿Buenos o Malos?. En: C. Aguilar, R. Rodríguez Herrera, S. Saucedo Pompa & D. Jasso Cantu, ed., *FITOQUIMICOS SOBRESALIENTES DEL SEMIDESIERTO MEXICANO: De la Planta a los Químicos Naturales y a la Biotecnología*, 1st ed. Saltillo, Coahuila, México: Cristóbal Noe Aguilar, Raúl Rodríguez Herrera Saúl Saucedo Pompa, pp.209-215.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A. and Passaglia, L.M. 2012 Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): The Potential as Antagonists and Biocontrol Agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 1044-1051
- Berlanga, R., C. A., González, L. L. A. y Franco, L. H. 1992. Metodología para la evaluación y manejo de lechuguilla en condiciones naturales [Folleto Técnico No. 1]. Campo Experimental "La Sauceda" Saltillo, Coahuila, México. SARHINIFAP- CIRNE.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (BDMTM). 2009a. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Consulta: 12 Agosto 2017. Disponible en <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (BDMTM). 2009b. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Consulta: 12 Agosto 2017. Disponible en:

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7483>

- Blanco, M.E. 1983. Manual de Plantas Toxicas del Estado de Chihuahua. Chihuahua, México. Centro Librero La Prensa. P 162, 163, 164.
- Blando, N. J. L. y Baca, M.S. 2001. Determinación del potencial productivo de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) en el municipio de San Juan de Guadalupe, Dgo. Revista Chapingo, Serie Zonas Áridas. pp. 100-105.
- Bottari, N. B., Lopes, L. Q. S., Pizzuti, K., dos Santos Alves, C. F., Corrêa, M. S., Bolzan, L. P. and Baldissera, M. D., 2017. Antimicrobial activity and phytochemical characterization of *Carya illinoensis*. Microbial Pathogenesis, 104, 190-195
- Boyratz, N. and M. Ozcan. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hidrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. Journal Food Microbiology 107: 238-242.
- Burns, R. M., & Honkala, B. H. 1990. Silvics of North America. Agriculture Handbook. Consultado: 24 Julio 2017. Disponible en http://www.na.fs.fed.us/spfo/pubs/silvics_manual/table_of_contents.htm
- Cáceres-Rueda de León, I., Colorado-Vargas, R., Salas-Muñoz, E., Muñoz-Castellanos, L. N., y Hernández-Ochoa, L. 2013. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuáticos de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. Revista mexicana de fitopatología, 31(2), 105-112.
- Cárdenas, V.J.O. 2000. Eficacia en el control químico de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici* en los cultivos de tomate, chile y sandía. Tesis de Maestría de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 156 p.
- Carvalho, D. D. C., Alves, E., Camargos, R. B., Oliveira, D. F., Scolforo, J. R. S., de Carvalho, D. A., and Batista, T. R. S. 2011. Plant extracts to control *Alternaria alternata* in Murcott tangor fruits. Revista Iberoamericana de Micología, 28(4), 173-178.
- Casaubon, E. A. 2007. Guía para la plantación de pecan en Argentina. In: Informe técnico; Proyecto Pecan. s.l., INTA. s.p.
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A., and Aguilar, C. N., 2010. *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. Industrial Crops and Products, 32(3), 324-328.

- Choudhary, D.K. and Johri, B.N. 2009 Interactions of *Bacillus* spp. and Plants— with Special Reference to Induced Systemic Resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164, 493-513.
- Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (Conabio). 1998. La diversidad biológica de México. “Estudio de país”. Consultado: 15 Agosto 2017. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx>.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). 2017. Consultado 14 Agosto 2017. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/70-zygop2m.pdf
- Conant, J. and Fadem, P. 2008. Guía comunitaria para la salud ambiental. 1st ed. Estados Unidos: Hesperian, pp.318-346.
- Correll, D. S., and Johnston, M. C. 1970. Manual of the vascular plants of Texas. Contributions from Texas Research Foundation. A series of botanical studies, 6.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Micro-biol. Rev.*10: 564-582.
- Coyle, J., and Roberts, N.C. 1975. A Field Guide to the Common and Interesting Plants of Baja California. Natural History Publisher Company. La Joya, California, USA. 43 p.
- Cruz, S. M., Velásquez, R., Lima, S., Menéndez, M. C., Dardón, R., Córdova, D., and González, J. 2011. Assessment of antioxidant activity of 24 native plants used in Guatemala for their potential application in natural product industry. In International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants IMAPS2010 and History of Mayan Ethnopharmacology IMAPS2011 964 (pp. 85-92).
- De Baets, S., Vandedrinck, S. and Vandamme, E. 2000. Vitamins and related biofactors, microbial production. *Encyclopedia of microbiology. Academic.* 4: 837–853
- Deighton, F. C., Stevenson, J. A., & Cummins, G. B. 1962. *Formae speciales* and the code. *Taxon*, 11(3), 70-71.
- Jasso de Rodríguez, D. J., García, R. R., Castillo, F. H., González, C. A., Galindo, A. S., Quintanilla, J. V., and Zuccolotto, L. M. 2011. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 960-966.

- Do Prado, A. C. P., Aragão, A. M., Fett, R., and Block, J. M. 2009. Antioxidant properties of Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell infusion. *Grasas y aceites*. 60(4), 330-335.
- Do Prado, A. C. P., a Silva, H. S., da Silveira, S. M., Barreto, P. L. M., Vieira, C. R. W., Maraschin, M. and Block, J. M. 2014. Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell. *Industrial Crops and Products*, 52, 552– 561.
- Estrada, B.M., M.N. Brito, L.E de la Cruz y V.A., Gómez. 2006. Producción de jitomate en condiciones protegidas. pp. 36-37. In: Memorias del IX Congreso Nacional Agronómico. 26-27 de abril de 2006. Texcoco, México
- Eufracio, O. O. 1992. Respuesta de una población natural de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) a diferentes sistemas de aprovechamiento. Tesis de Licenciatura. Universidad Autonoma de Nuevo Leon. 65 p.
- Falardeau, J., Wise, C., Novitsky, L. and Avis, T.J. 2013. Ecological and Mechanistic Insights into the Direct and Indirect Antimicrobial Properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides on Plant Pathogens. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 869-878.
- Fernández, C., y Juncosa, R. 2002. Biopesticidas:¿ la agricultura del futuro. *Phytoma*, 141, 14-19.
- Ferreira, J.H.S., N.F. Matthee and C.A. Tomas (1991). Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 81: 283-288.
- FIRA, Fideicomisos Instituidos en Relación a la Agricultura. 2016. Panorama Agroalimentario, Tomate Rojo. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf (Consulta, Octubre 2017).
- Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (FAOSTAT) 2015
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2003a. Agricultura Orgánica ambiente y Seguridad Alimentaria. Editorial FAO. Italia. 253 pp.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2003b. ¿Es la Certificación Algo para Mí? Una Guía Práctica sobre por qué, cómo y con Quién Certificar Productos Agrícolas para la Exportación. Consultado 27 Julio del 2017. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/007/ad818s/ad818s00.htm#Contents>
- Fresnedo, J, and Orozco, Q. 2013. Diversity and distribution of genus *Jatropha* in Mexico. *Genet Resour Crop Evol*, 60(3), 1087-1104.

- Gabrielson, J., Hart, M., Jarelöv, A., Kühn, I., McKenzie, D., and Möllby, R., 2002. Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. *Journal of Microbiological Methods*, 50(1), 63-73.
- Gamboa, A. R. 1997. Evaluación de extractos vegetales sobre la pudrición de la raíz y corona (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) y los efectos fisiológicos en tomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 93 p.
- García-Bores, A. M., Espinosa-González, A. M., Reyna-Campos, A., Cruz-Toscano, S., Benítez-Flores, J. C., Hernández-Delgado, C. T., and Avila-Acevedo, J. G., 2017. *Lippia graveolens* photochemopreventive effect against UVB radiation-induced skin carcinogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 72-81.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) 2ª edición. UNAM. Ciudad Universitaria México, D. F., 246 p.
- Gentry, H.S. 1982 *Agaves of Continental North America*, The University of Arizona Press, Tucson, AZ. pp. 60–62.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-114.
- Goldman, G. H., Hayes, C. and Harman, G. E. 1994. Molecular and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *Trends in Biotechnology* 12:478-482.
- González, I., Arias, Y. and Peteira, B. 2012. Aspectos Generales de la Interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-Tomate. *Rev. Protección Veg* 27(1): 1-7.
- Gordon, T. R. and Martyn R. D. 1997. The evolutionary Biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopatology* 35: 111-128.
- Güereca, M. C. G., Hernández, M. S., Kite, G., and Vázquez, M. M., 2007. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(1), 43-49.
- Hanaa, R. F., Abdou, Z. A., Salama, D. A., Ibrahim, M. A., and Srour, H. A. M. 2011. Effect of neem and willow aqueous extracts on *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(1), 1-7.
- Hancock, B.G. 1997. *Texas Pecan Handbook*. Development of Pecan Industry, Texas Agricultural Extension Service: College Station, TX

- Hernández, A. N.; S. Bautista y M. G. Velázquez. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30 (2): 119-123.
- Hernández-Castillo, F. D., Castillo-Reyes, F., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., and Aguilar-González, C. N. 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.
- Hernández-Castillo, F. D., Castillo-Reyes, F., Gallegos-Morales, G., Rodríguez - Herrera, R. and Aguilar, C. 2011. Plant Extracts from Mexican Native Species: An Alternative for Control of Plant Pathogens. In: R. Nokkoul, ed., RESEARCH IN ORGANIC FARMING, 1st ed. Croacia: Raumjít Nokkoul, pp.139-156.
- Hernández-Martínez, R., López-Benitez, A., Borrego-Escalante, F., Espinoza-Velásquez, J., Sánchez- Aspeytia, D., Maldonado-Mendoza, E. y López-Ochoa, L. 2014. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 5(7): 1169-1178
- Hernández, S., Lugo, C., Díaz, J., y Villanueva, S. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey. *Revista digital Científica y Tecnológica (e-Gnosis)*. 3,1-9.
- Hernández-Soto, R. y Díaz-Jiménez, L. 2008. Lechuguilla: *Agave Lechuguilla* Torrey. En: C. Aguilar, R. Rodríguez Herrera, S. Saucedo Pompa & D. Jasso Cantu, ed., FITOQUIMICOS SOBRESALIENTES DEL SEMIDESIERTO MEXICANO: De la Planta a los Químicos Naturales y a la Biotecnología, 1st ed. Saltillo, Coahuila, México: Cristóbal Noe Aguilar, Raúl Rodríguez Herrera Saúl Saucedo Pompa, pp.209-215.
- Hernández, T., Canales, M., García, A. M., Duran, Á., Meráz, S., Dávila, P., and Ávila, J. G. 2008. Antifungal activity of the essential oils of two verbenaceae: *Lantana achyranthifolia* and *Lippia graveolens* of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7(4).
- Hossain, M.J., Ran, C., Liu, K., Ryu, C.M., Rasmussen-Ivey, C.R., Williams, M.A., Hassan, M.K., Choi, S.K., Jeong, H., Newman, M., Kloepper, J.W. and Liles, M.R. 2015. Deciphering the Conserved Genetic Loci Implicated in Plant Disease Control through Comparative Genomics of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*. *Frontiers in Plant Science* , 6, 631
- Huerta, C. 2005. "Orégano mexicano oro vegetal". Consultado 1 Agosto 2017. Disponible en: <http://www.maph49.galeon.com/biodiv2/oregano.html>

- Igbinosa, O. O.; E. O. Igbinosa and O. A. Aiyegoro. 2009. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3 (2): 58-62.
- INFROAGRO, 2004. EL CULTIVO DEL ORÉGANO. Orégano (*Origanum vulgare* (L), ssp. *vulgare*. *Origanum vulgare* (L), ssp. *virens* Hoffm. Consultado 5 Agosto 2017. Disponible en: http://www.infoagro.com/aromaticas/oregano_sin2.as
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) Página sobre exportaciones hacia otros países. Consultado 14 Agosto 2017 Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/default.aspx>
- Jaramillo, J. 2007. Buenas prácticas agrícolas en la producción de tomate bajo condiciones protegidas, Manual técnico. Convenio corporaica, Gobierno de Antioquía, FAO. Colombia. 103pp.
- Jeong MH, Lee YS, Cho JY, Ahn YS, Moon JH, Hyun HN and Kim KY. 2017. Isolation and characterization of metabolites from *Bacillus licheniformis* MH48 with antifungal activity against plant pathogens. *Microbial Pathogenesis*. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.07.027
- Jiménez, D.R., C.G. Virgen, P.V. Tabares y F.S. Olalde (2001). Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. *Avance y Perspectiva* 20: 395-398.
- Kim, D. Black Walnut Allelopathy: Tree Chemical Warfare. Consultado 29 Agosto 2017. Disponible en: <https://www.warnell.uga.edu/sites/default/files/publications/WSFNR-17-06%20Coder.pdf>
- Kistler, H. C. 2001. Evolution of the host specificity in *Fusarium oxysporum*. *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*, pp. 70-96. Summerell, A., Leslie, J. F., Badihouse, D., Bryden, W. L. and Burgess, L.W.
- Leclere, V., Bechet M., Adam A, Guez J. S., Wathelet, B., Ongena, M., Thonart, P., Gancel, F., Chollet-Imbert M., and Jacques, P. 2005. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organisms antagonistic and biocontrol activities. *Applied and Environmental Microbiology* 71:4577–4584.
- Lemús, G. 2004. El cultivo de pecano (*Carya Illinoensis*). Consultado 28 Agosto 2017. Disponible en <http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/EL20CULTIVO%20DEL%20PECANO.pdf>
- Leslie, J. F., Zeller, K. A., and Summerell, B. A. 2001. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59(3), 107-117.

- Lira-Saldivar, R.H., Gamboa-Alvarado, R., Villarreal-Cárdenas, L.A., López-Campos, R.G., and Jiménez-Díaz. 2002. Hydrosoluble extracts of *Larrea tridentata* from two desertic zones in the north of Mexico and their inhibitory effect on *Fusarium oxysporum*. PHYTON-International Journal of Experimental Botany 2002:167-172
- Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. 2015. Chapter Two-The Evolution of Fungicide Resistance. Advances in applied microbiology, 90, 29-92.
- Ma, L. J.; Geiser, D. M.; Proctor, R. H.; Rooney, A. P.; O'Donnell, K., Trail, F. y Kazan, K. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. Annual review of microbiology, 67, 399-416
- Maget-Dana, R., and Peypoux, F. 1994. Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physicochemical properties. Toxicology, 87(1-3), 151-174.
- Manzanero, G. I., Flores, A., Sandoval, E. y Bye, R., 2009. Etnobotánica de siete raíces medicinales en el mercado de Sonora de la Ciudad de México. Polibotánica, 27, 191-228.
- Manzo, D., Ferriello, F., Puopolo, G., Zoina, A., D'Esposito, D., Tardella, L., and Ercolano, M. R. 2016. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* induces distinct transcriptome reprogramming in resistant and susceptible isogenic tomato lines. BMC plant biology, 16(1), 53.
- Marlatt, M. L. J.; Correll, J. C.; Kaufman, P. and Cooper, P. E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. Plant Dis. 80(12):1336-1342.
- Marroquín, J. S., Borja, L. G, Velásquez, C. R. y De la Cruz, J. A. 1981. Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Publicación Especial Núm. 2. 2ª Edición. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. México, D. F. 166 p.
- Martínez, M. y Matuda, E. 1979. Flora del Estado de México. Biblioteca Enciclopédica del Estado de México.
- Martínez-Natarén, D., Parra-Tabla, V., Dzib, G., and Calvo-Irabien L.M., 2011. Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican orégano (*Lippia graveolens* H.B.K., Verbenaceae), and the relationship between trichome density and climate, J. Torrey Bot. Soc. 138 (2): 134-144.
- Martínez, N., Vázquez-Alvarado, P., Figueroa, A., Zúñiga, C., Almaguer, G., y Hernández-Ceruelos, A., 2014. Análisis fitoquímico de *Jatropha dioica* y determinación de su efecto antioxidante y quimio protector sobre el potencial genotóxico deciclofosfamida, daunorrubicina y metil metanosulfonato evaluado mediante el ensayo cometa TT -

- Phytochemical analysis of Jatr. Bol. Latinoam. Caribe Plantas Med. Aromát, 13(5), 437–457.
- Martins, S., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A., and Mussatto, S. I., 2012. Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentata* leaves by solvents extraction. Separation and Purification Technology, 88, 163–167.
- Martins, S., Amorim, E. L., Sobrinho, T. J. P., Saraiva, A. M., Pisciotano, M. N., Aguilar, C. N., and Mussatto, S. I., 2013. Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. Industrial Crops and Products, 41 (1), 306-311.
- Masoko, P., Picard, J., and Eloff, J. N., 2005. Antifungal activities of six south African Terminalia species (Combretaceae). Journal of Ethnopharmacology, 99(2), 301-308.
- Méndez, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales-Adame, D., Castillo, F., Hernández-Castillo, F. D., and Aguilar, C. N. 2012. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. Industrial Crops and Products, 37(1), 445-450.
- Mercado-Martínez, D. y Aguilar, C.N. 2008. Gobernadora (*Larrea tridentata*). In: C. Aguilar, R. Rodríguez Herrera, S. Saucedo Pompa & D. Jasso Cantu, ed., FITOQUIMICOS SOBRESALIENTES DEL SEMIDESIERTO MEXICANO: De la Planta a los Químicos Naturales y a la Biotecnología, 1st ed. Saltillo, Coahuila, México: Cristóbal Noe Aguilar, Raúl Rodríguez Herrera Saúl Saucedo Pompa, pp.103-113.
- Menzies, J.G., Koch, C. and Seywerd, F. 1990. Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercici*. Plant disease 74: 569-572.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2013. EL CULTIVO DE TOMATE CON BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN LA AGRICULTURA URBANA Y PERIURBANA [Folleto]. Editorial FAO. Paraguay. 70 pp.
- Moorby, J. 1981. Transport systems in plants. Lonman and Tchnical. New York, EUA. 169 p.
- Mora, I., Cabrefiga, J. and Montesinos, E. (2011) Antimicrobial Peptide Genes in Bacillus strains from Plant Environments. International Microbiology, 14, 213-223.
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., & Perales-Ramírez, A. (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.
- Nobel, P. S. and Quero, E. 1986. Environmental productivity indices for a Chihuahuan Desert CAM plant, *Agave lechuguilla*. Ecology, 67(1):1-11.

- Noguera, R. 1980. Crecimiento y germinación de clamidosporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* en extractos radiculares de plantas de tomate infectadas *Meloidogyne incognita*. *Agronomía Tropical*. 30, 305-313.
- Osorio, E., Flores, M., Hernández, D., Ventura, J., Rodríguez, R., and Aguilar, C. N. 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (*Carya Illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata* Cov.) against plant pathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, 31(1), 153–157.
- Palmar, V. S., Jha, H. N., Gupta, A.K. and Prasad, A. K., 1992. Argemone, a flavanone from *Agave americana*. *Phytochemistry*. 31 (7): 2567-2568.
- Pérez-Hernández, M.E. 2010. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos de Plantas del Sureste de Coahuila en Diferentes Solventes contra *Rhizoctonia solani* Kühn. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Licenciatura. 74pp.
- Peschiutta, M. L., Arena, J. S., Ramirez Sanchez, A., Gomez Torres, E., Pizzolitto, R. P., Merlo, C. and Zygadlo, J. A. 2016. Effectiveness of Mexican oregano essential oil from the Dominican Republic (*Lippia graveolens*) against maize pests (*Sitophilus zeamais* and *Fusarium verticillioides*). *Agriscientia*, 33(2), 89-97.
- Peterson, J.K. 1990. *Carya illinoensis* (Wangenh.) K.Koch pecan. In: Burns, R.; Honkala, B. eds. *Silvics of North America*. Washington, D.C., USDA. Forest Service. v.2, pp. 205-210. (Agricultura Handbook no. 654). Consultado 29 Julio. 2017. Disponible en [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=bMnRqCA3uzwC&oi=fnd&pg=PA205&dq=Peterson,+J+.K.+1990.+Carya+illinoensis+\(Wangenh.\)+K.Koch+pecan.In:+Burns,&ots=JhbomYj8os&sig=CD4QJnqPfYwChyfNi8IXo4YjLTg#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=bMnRqCA3uzwC&oi=fnd&pg=PA205&dq=Peterson,+J+.K.+1990.+Carya+illinoensis+(Wangenh.)+K.Koch+pecan.In:+Burns,&ots=JhbomYj8os&sig=CD4QJnqPfYwChyfNi8IXo4YjLTg#v=onepage&q&f=false)
- Pulido, P. R. 2004. Diseño de un método para la cuantificación de las existencias de fibra de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torrey) y la estimación de la producción en cuatro poblaciones del noreste de México. Tesis de Licenciatura. UANL. F. C. F. Linares, Nuevo León. 52 pp.
- Pusey, P.L. (1989). Use of *Bacillus subtilis* and related organism as biofungicides. *Pesticides Science* 27: 13-17.
- Qin, C., Nagai, M., Hagins, W., and Hobbs, R. 2011. The allelopathic effects of juglone containing nuts. *The Journal of Experimental Secondary Science*, 1.
- Ragazzo-Sanchez J., Robles-Cabrera A., Lomeli-Gonzales L., Luna-Solano G. y Calderon-Santoyo M. 2011. SELECCIÓN DE CEPAS DE *Bacillus* spp.

PRODUCTORAS DE ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE FRUTOS TROPICALES. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(1): 5-11

- Raissouni, T. 2005. Estudio comparativo de la eficacia de varios tratamientos tópicos de la estomatitis aftosa recurrente. Universidad Autónoma de Granada, Facultad de Odontología. p 1-46.
- Ramírez, V.J. 1998. Enfermedades de la raíz en tomate. pp. 29-49. En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 255 p.
- Ramírez-Legarreta, M. y Jacobo-Cuéllar, J. 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. Revista mexicana de Fitopatología, 20(2), 168-173.
- Ramírez, V.J y Sáinz, R.R. 2006. Manejo integrado de las enfermedades del tomate 1ra. ED. Once Ríos. México p.p. 19-160.
- Ramyabharathi, S. A., and Raguchander, T. 2014. Efficacy of Secondary Metabolites Produced by EPCO16 against Tomato Wilt Pathogen f. sp. J Mycol Plant Pathol, 44(2), 148.
- REDSA. 2017. EXTRACTOS NATURALES. Consultado :25 Julio 2017. Disponible en <http://redsa.com.mx/extractos.html>.
- Reyes, A. J. A., Aguirre R. J. R y Peña V. C. B. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. Bol. Soc. Bot. México 67: 75-88.
- Richardson, A., 2010. Plants of Deep South Texas: a field guide to the woody and flowering species. College Station, TX, USA: Texas A&M University Press; p. 457.
- Rivera-Castañeda, G., Martínez-Téllez, M.A., Vallejo-Cohen, S., Alvarez-Manzanilla, G., Vargas-Arispuro, I., Moya- Sanz, P., and Primo-Yúfera, E. 2001. In vitro inhibition of mycelial growth of *Tilletia indica* by extracts of native plants from Sonora, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19:214-217
- Rodríguez-Gonzales, C. A. 2013. Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (*solanum lycopersicum*) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higerilla (*Ricinus communis*) Universidad Católica de Manizales. Tesis de Licenciatura. 61pp.
- Ruitón, C. M. F., Alcarraz, M. R., y Vidalón, M. T. 1998. Flavonoides y alcaloides de *Lupinus ballianus* CC Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación, 1(2), 71-80.

- SAGARPA. 2010. Monografía de Cultivos: Jitomate. Consultado 1 Julio 2017. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Jitomate.pdf>
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M.N., Ismail, S. and Mansor, S.M. 2009. Phytochemical and antimicrobial activity of *Swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. *Tropical Biomedicine* 26(3), 274-279.
- Salas-Gómez, A.L. 2013. EFECTO DEL EXTRACTO DE *Jatropha dioica* EN EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* en TOMATE (*Solanum lycopersicum*). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Maestría. 87pp.
- Santos-Buelga, C., and Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094-1117.
- Santos, Z., Marica, L., Cortes, C., Gutiérrez, A., and Uribe, J. 2012. Current Bioactive Compounds. Bentham Science Publishers. 8, 218-231.
- Sánchez, C.M.A. 1998. Enfermedades causadas por hongos en tomate. pp. 17-28. En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 255 p
- Sánchez, O., 2007. Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de las Especies Silvestres en México (MER) Instituto Nacional de Ecología. 91-107 pp
- Sarti G., y Miyazaki, S. 2013. Actividad anti fúngica de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatógenos de soja (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*. *Agrociencia*. 47(4), 373-383.
- Sasaki, T. 1964. Components of pecan (*Carya pecan*). II. A new flavonol caryatin isolated from the bark of pecan and its structure. *J. Pharm. Soc. Jap.* 84:47-51.
- Scalbert, A., Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130, 2073–2085.
- Schaad N. W., Jones J.B., Chun W. (2001). *Plant Pathogenic Bacteria*. 3er Edición. Editorial APS PRESS. Estados Unidos. 365pp.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2016. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola del Servicio de Información

- Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Consultado 2 Julio 2017. Disponible en http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/ientidad/index.jsp
- Shami, A.M.M., Philip, K. and Muniady, S. 2013. Synergy of antibacterial and antioxidant activities from crude extracts and peptides of selected plant mixture. *BMC Complementary & Alternative medicine* 13, 360.
- Sheldon, S. 1980. Ethnobotany of *Agave lechuguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico, Zona Ixtlera. *Economic Botany*, 34(4): 376-379.
- Shipper, B., A.W. Baker y P.A. Baker (1987). Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339-345.
- Shreve, F., y Wiggins, I.L. 1964. *Vegetation and Flora of the Sonoran Desert*. Vol. II. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 75 p
- Sidana, J., Singh, B., & Sharma, O. P., 2016. Saponins of Agave: Chemistry and bioactivity. *Phytochemistry*.
- Sierra, E. M.; Perez, S. P.; Casagrande, G. y Vergarar, G. 2001. Efecto del ENSO sobre las precipitaciones del trimestre noviembre-enero (1981/1998) en el centro este de la provincia de la Pampa, Argentina. *Revista Agronómica del Agrometeorología*. 1 (2):83-87.
- Silva-Belmares, Y., Rivas-Morales, C., Viveros-Valdez, E., de la Cruz-Galicia, M. G. and Carranza-Rosales, P. 2014. Antimicrobial and cytotoxic activities from *Jatropha dioica* roots. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17(5), 748–750.
- Silva, M. A. and Equiarte, L. E. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan Desert. I. Floral Chareacteristics, visitors, and fecundity. *American Journal of Botany* 90 (3):377- 387.
- Silva-Mares, D., Torres-López, E., Rivas-Estilla, A. M., Cordero-Perez, P., Waksman-Torres, N., and Rivas-Galindo, V. M. 2013. Plants from northeast Mexico with anti-HSV activity. *Natural Product Communications*, 8(3), 297–298.
- Silva-Vázquez, R., Gastelum- Franco, M. G., Torres- Muñoz, J.V., y Nevárez-Moorillon V. 2008. Las especies de orégano en México. In: C. Aguilar, R. Rodríguez Herrera, S. Saucedo Pompa & D. Jasso Cantu, ed., *FITOQUIMICOS SOBRESALIENTES DEL SEMIDESIERTO MEXICANO: De la Planta a los Químicos Naturales y a la Biotecnología*, 1st ed. Saltillo, Coahuila, México: Cristóbal Noe Aguilar, Raúl Rodríguez Herrera Saúl Saucedo Pompa, pp.209-215. 142-160
- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology* 56: 845–857.

- Stuardo, M. and San Martín, R. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Ind Crops Prod.* 2008;27:296-302.
- Suarez-Jacobo, A., Obregón-Solís, E., Urzua-Esteva, E., Cervantes-Martínez, J., García-Fajardo, J.A., Reyes-Vásquez, N.C. y Urrea-López, R. 2016. Retos y oportunidades para el aprovechamiento de la Nuez pecanera en México. Consultado 20 Agosto 2017. Disponible en: http://ciatej.mx/docs_noreste/retos_oportunidades_para_el_aprovechamiento_de_la_nuez_pecanera_en_M%C3%A9xico_2016.pdf
- Thompson, R.S. and Anderson, K.H., 2005. Past Climate and Vegetation Changes in the Southwestern United States. Consultado: 10 Julio 2017. Disponible en: <http://geochange.er.usgs.gov/sw/impacts/biology/pastclim/>.
- Tejero-Hernandez B., Roja-Badia M. y Hedrych-Perez M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 42(3): 131-138.
- Tendulkar, S. R., Saikumari, Y. K., Patel, V., Raghotama, S., Munshi, T. K., Balaram, P., and Chattoo, B. B. 2007. Isolation, purification and characterization of an antifungal molecule produced by *Bacillus licheniformis* BC98, and its effect on phytopathogen *Magnaporthe grisea*. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2331-2339.
- Toure, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A. and Thonart, P. 2004. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Journal of Applied Microbiology* 96:115–1160.
- Ubaldo-Vasque G. 2014. Actividad antifungica del extracto etanólico de *Florensia cernua* Dc para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo del tomate. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Maestria. 147 pp.
- Ujváry, I. 2002. Transforming natural products into natural pesticides-experiences and expectations. *Phytoparasitica* 30: 439-441.
- Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ). 2009. Consultado 21 Agosto 2017. Disponible en: <http://www.uaq.mx/FCN/naturaleza/Jathropha%20dioica.php>
- Usman, H., Abdulrahman, F.I. and Usman, A. 2009. Qualitative phytochemical screening and in vitro antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficusthonningii* (Moraceae). *Afr. J. Trad.* 6(3), 289-295.

- Valdez, L.J.D. 1999. Determinación de la raza tres de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causante de la marchitez en tomate, en el Valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México. 39 p.
- Van Veen, J.A., L.S. Van Oberbeek and J.D. Van Elsas (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Micro Molec Rev* 61: 121-131.
- Velásquez, V.R. 1981. Evaluación de la actividad fungicida de la resina de gobernadora sobre *Eutypa armeniacae* Hansand Carter. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 48 p
- Viñas, I., Teixidó, N., Abadias, M., Torres, R. y Usall, J. 2006. Alternativas a los fungicidas de síntesis en el control de las enfermedades de postcosecha de frutas. Innovaciones fisiológicas y tecnológicas de la maduración postrecolección de frutas y hortalizas. Ed. D. Valero y M. Serrano. Orihuela, Alicante, España, 263-373.
- Villacencio-Gutierrez, E. E., Cano-Pineda, A. y Garcia-Cuevas, X. 2010. Metodología para determinar las existencias de orégano (*Lippia graveolens* H.B.K.) en rodales naturales de Parras de la Fuente, Coahuila [Folleto]. Saltillo, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., y Martínez-Escudero, E. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2).
- Villareal, R.L. y Maiti, R.K. 1989. Características morfoanatómicas y productividad de fibra en *Agave lechuguilla* Torr. en Nuevo León. *Turrialba* Vol. 41 Núm. 3, pp 423-429.
- Villaseñor, R., J. L. y F. J. Espinosa, G., 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Wagner, V. y Hazel, W. 2005. *Carya illinoensis* Pecan. In R. E. Litz (Ed.), *Biotechnology of fruit and nut crops*. CABI.
- Wilson, C. L., A. El Ghaouth and M. E. Winiewski. 1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticide. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17: 49-53.
- Wise, C., Falardeau, J., Hagberg, I. and Avis, T.J. 2014 Cellular Lipid Composition Affects Sensitivity of Plant Pathogens to Fengycin, an Antifungal Compound Produced by *Bacillus subtilis* Strain CU12. *Phytopathology*, 104, 1036-1041.

- Wu, Y., Yuan, J., Raza, W., Shen, Q. and Huang, Q. (2014) Biocontrol Traits and Antagonistic Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* Strain NJZJSB3 against *Sclerotinia sclerotiorum*, a Causal Agent of Canola Stem Rot. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1327-1336.
- Xiang-ming, C. H. E. N., 2010. Study on Extraction and Separation Conditions of Quinone from *Carya cathayensis* Peel [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 5, 137.
- Yesid, A. y Ligia, S. 2012. Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*. 10(18):149-155.
- Zapién, B. M. 1981. Evaluación de la producción de ixtle de lechuguilla en cuatro sitios diferentes. In: 1a Reunión Regional sobre Ecología, Manejo y Domesticación de las Plantas Útiles del Desierto. Publicación Especial No 31. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. SARH. México, D. F. México. pp. 385-389.

ANEXOS

Anexo A.1. Incidencia de la enfermedad (%) en plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

Tratamiento	REPETICIONES					
	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	50.00	100.00	50.00	100.00	100.00	100.00
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
5 (Químico)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
6 (Testigo inoculado)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
7 (Testigo absoluto)	0.00	50.00	50.00	50.00	0.00	0.00

Anexo A.2 .Análisis de varianza para la incidencia de la enfermedad en plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	2.72619048	0.45436508	17.35	<0.0001
ERROR	35	0.91666667	0.02619048		
TOTAL	41	3.64285714			
C.V.	18.88%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo B.1. Severidad de la enfermedad en plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	2.00	2.00	1.50	2.50	2.00	2.50
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	3.00	2.00	2.50	2.50	3.00	3.00
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	1.50	2.50	1.50	2.50	2.50	2.50
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	3.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
5 (Químico)	3.00	2.50	2.50	2.50	2.00	3.00
6 (Testigo inoculado)	2.00	3.00	3.00	3.00	3.00	2.5
7 (Testigo absoluto)	0.00	1.50	0.00	0.00	0.00	0.00

Anexo B.2 .Análisis de varianza para la severidad de la enfermedad en plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	27.7023809	4.61706349	21.43	<0.0001
ERROR	35	7.54166667	0.21547619		
TOTAL	41	35.24404762			
C.V.	21.54%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo C.1. Severidad de la enfermedad en raíces de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	1.00
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	1.50	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00
5 (Químico)	1.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6 (Testigo inoculado)	1.50	1.00	1.00	1.00	1.50	1.00
7 (Testigo absoluto)	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Anexo C.2 .Análisis de varianza para la severidad de la enfermedad en raíces de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	3.58333333	0.59722222	4.92	0.0010
ERROR	35	4.25000000	0.12142857		
TOTAL	41	7.83333333			
C.V.	41.81%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo D.1. Peso seco de la biomasa aérea (g) de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	24.80	32.80	24.50	25.80	29.30	22.95
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	16.55	29.25	25.25	24.20	36.85	25.55
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	28.60	34.60	28.70	27.95	28.25	28.35
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	17.75	17.60	26.10	23.15	16.05	22.15
5 (Químico)	30.35	30.50	30.65	35.85	37.80	27.85
6 (Testigo inoculado)	25.45	22.55	26.75	26.00	25.40	16.90
7 (Testigo absoluto)	32.35	25.30	26.80	30.95	22.25	21.80

Anexo D.2 .Análisis de varianza para peso seco de la biomasa aérea de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	504.515357	84.085893	4.62	0.0015
ERROR	35	636.592083	18.188345		
TOTAL	41	1141.107440			
C.V.	16.11%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo E.1. Altura de plantas (cm) de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	77.50	85.00	64.00	56.00	70.00	65.00
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	71.00	86.00	90.00	82.50	83.00	71.00
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	66.00	77.50	70.00	74.00	79.00	64.00
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	59.00	68.00	74.50	69.00	70.00	66.50
5 (Químico)	86.50	99.00	82.50	100.00	70.00	70.00
6 (Testigo inoculado)	41.00	62.50	49.50	55.00	55.00	50.00
7 (Testigo absoluto)	90.00	89.00	75.00	68.50	58.50	59.50

Anexo E.2 .Análisis de varianza para altura de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	3902.785714	650.464286	6.97	<.0001
ERROR	35	3264.500000	93.271429		
TOTAL	41	7167.285714			
C.V.	13.52%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo F.1. Peso seco de raíz (g) de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

Tratamiento	REPETICIONES					
	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	33.29	28.10	25.80	18.22	30.79	7.59
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	33.07	21.47	18.14	24.37	24.14	18.24
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	38.99	19.97	20.92	18.02	20.34	22.12
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	10.77	7.89	12.59	7.64	5.69	12.54
5 (Químico)	29.94	15.44	22.02	17.29	34.49	11.44
6 (Testigo inoculado)	7.87	15.24	12.54	23.39	36.94	13.23
7 (Testigo absoluto)	11.94	22.69	15.39	18.54	11.59	8.09

Anexo F.2 .Análisis de varianza para peso seco de raíz de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	1068.414781	178.069130	3.06	0.0163
ERROR	35	2035.715583	58.163302		
TOTAL	41	3104.130364			
C.V.	39.60%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo G.1. Longitud de raíz (cm) de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

Tratamiento	REPETICIONES					
	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	54.00	51.00	54.50	56.50	52.00	53.00
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	54.00	51.00	58.00	58.00	50.50	58.50
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	48.00	43.50	44.50	58.50	59.00	55.00
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	38.00	35.00	34.50	33.50	17.50	27.50
5 (Químico)	69.50	47.00	56.50	47.50	45.50	54.00
6 (Testigo inoculado)	47.50	35.50	31.50	39.00	25.00	26.00
7 (Testigo absoluto)	57.50	49.50	45.50	38.50	32.50	31.00

Anexo G.2 .Análisis de varianza para longitud de raíz de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

FV	ANÁLISIS DE VARIANZA				
	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	3599.952381	599.992063	11.02	<.0001
ERROR	35	1906.458333	54.470238		
TOTAL	41	5506.410714			
C.V.	16.10%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo H.1. Diámetro de tallo (mm) de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	9.35	9.50	8.75	10.10	10.05	9.65
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	8.10	10.65	10.05	8.70	9.63	9.25
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	9.40	9.45	9.80	12.10	9.20	10.95
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	9.65	8.75	9.95	9.20	8.95	9.20
5 (Químico)	8.40	10.45	9.05	8.80	11.75	9.45
6 (Testigo inoculado)	7.85	8.60	9.30	8.10	11.10	8.70
7 (Testigo absoluto)	9.95	9.25	10.15	10.45	9.25	9.50

Anexo H.2 .Análisis de varianza para diámetro de tallo de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANALISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	7.66279524	1.27713254	1.36	0.2590
ERROR	35	32.93616667	0.94103333		
TOTAL	41	40.59896190			
C.V.	10.24%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo I.1. Clorofila en hojas (Unidades SPAD) de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	21.75	23.30	12.10	13.40	17.10	12.80
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	6.00	25.00	15.65	14.90	8.05	8.15
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	24.50	22.35	19.80	20.40	17.60	7.65
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	17.95	29.20	15.40	22.20	14.70	10.65
5 (Químico)	17.45	18.10	16.75	15.30	11.60	9.35
6 (Testigo inoculado)	15.20	7.75	9.80	19.30	9.55	3.75
7 (Testigo absoluto)	27.05	37.40	22.85	25.30	30.35	18.25

Anexo I.2. Análisis de varianza para clorofila en hojas de plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANALISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	965.086190	160.847698	4.74	0.0012
ERROR	35	1187.490000	33.928286		
TOTAL	41	2152.576190			
C.V.	34.18%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo J.1. Numero de frutos de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

REPETICIONES						
Tratamiento	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	9.5	8	5.5	6.5	8.5	6.5
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	1.7	8.5	10	8	8	7.5
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	9	9	8.5	10	9.5	9
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	2	6.5	4.5	8.5	8	5.5
5 (Químico)	5	6.5	8	6	8.5	9.5
6 (Testigo inoculado)	8.5	8.5	7	7.5	9	5
7 (Testigo absoluto)	6.5	8	5.5	7	7	8.5

Anexo J.2. Análisis de varianza para número de frutos de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

ANALISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	37.5000000	6.2500000	2.82	0.0240
ERROR	35	77.5000000	2.2142857		
TOTAL	41	115.0000000			
C.V.	19.84%				
Nivel de significancia	0.05				

Anexo K.1. Peso de frutos (g) de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

Tratamiento	REPETICIONES					
	1	2	3	4	5	6
1 (<i>L. graveolens</i> tallo)	287.70	250.50	208.10	200.80	308.95	266.45
2 (<i>L. graveolens</i> hoja)	175.00	274.15	262.10	159.05	82.10	172.10
3 (<i>A. lechuguilla</i> hoja)	259.25	214.55	215.85	335.45	237.95	229.90
4 (<i>C. illinoensis</i> ruezno)	155.55	218.55	158.20	182.40	253.75	177.45
5 (Químico)	149.00	170.05	153.30	224.75	86.00	243.95
6 (Testigo inoculado)	142.30	241.30	244.80	163.40	319.85	73.30
7 (Testigo absoluto)	310.00	232.70	164.40	220.60	283.90	101.65

Anexo K.2. Análisis de varianza para peso de frutos de las plantas de tomate al final del ensayo *in vivo*.

FV	ANALISIS DE VARIANZA				
	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	6	36199.3948	6033.2325	1.54	0.1928
ERROR	35	136729.4650	3906.5561		
TOTAL	41	172928.8598			
C.V.	29.79%				
Nivel de significancia	0.05				