

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Actividad Antifúngica In Vitro de Extractos Vegetales Contra  
*Fusarium oxysporum* Snyder y Hans

Por:

**MARTHA EMILIA OCAÑA LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México

Agosto de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Actividad Antifúngica In Vitro de Extractos Vegetales Contra  
*Fusarium oxysporum* Snyder y Hans

Por:

**MARTHA EMILIA OCAÑA LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

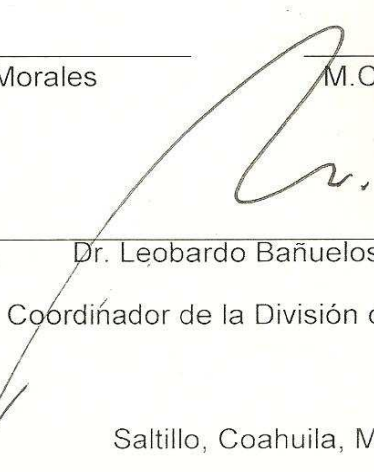
**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Aprobada



Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor Principal

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coasesor  
M.C. Andrés Rodríguez Gámez  
Coasesor  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Agosto de 2013

## AGRADECIMIENTO

**A Dios**, por darme el preciado regalo de la vida, por darme paciencia, fortaleza y esperanzas para seguir adelante. Por cuidar de mí y de los míos durante el tiempo que estuve lejos de casa. Gracias por guiarme en cada momento de mi vida por ser la luz que ilumina mi caminar diario y evitar rendirme ante las adversidades.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por darme la oportunidad de seguir adelante con mis estudios; por haberme abierto sus puertas bajo cobijo de sus instalaciones y personal.

**Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**, por su disposición a ser el asesor principal de este trabajo; por el tiempo brindado para la revisión y realización del mismo. Por la transmisión de conocimientos, primordial en mi formación profesional.

**Al Dr. Gabriel Gallegos Morales** Por su incondicional y disposición en la formación de mi comité de asesoría, y por su valiosa aportación de conocimientos y revisión del presente trabajo. Gracias.

**Al M.C. Andrés Rodríguez Gámez**. Por el apoyo incondicional brindado, así como por su amable atención en la revisión de este documento. Pero sobre todo por la paciencia con la que supo orientarme durante la realización de este proyecto.

A cada una de las personas que han intervenido en mi formación personal y profesional durante mi estancia en esta Universidad..... a todos Gracias.

## **DEDICATORIA**

### **A mis padres:**

Jeremías Ocaña Hernández

Martha López Cruz

Con profundo amor y respeto, por todo el apoyo incondicional que me han brindado siempre. Por sus desvelos, preocupaciones, por que confiaron en mí pese a todo; a ustedes que día a día me enseñan a superar los retos y ser mejor persona. Sé que su esfuerzo fue mucho más grande que el mío y eso jamás lo voy a olvidar. Dios me los bendiga siempre.

### **A mis Hermanos:**

Socorro

Gamaliel

Nayeli

Por todo lo que hemos vivido y compartido juntos, por su cariño, comprensión y consejos. Porque como personas y hermanos son únicos.

### **A mis tíos:**

Amando Ocaña Hernández

Inés Ocaña Hernández

Por tener siempre un consejo para mí y darme siempre su bendición. Por su alegría y entusiasmo que día con día me inculcaban a seguir adelante.

**A la familia:**

Colmenares Bolón

Ocaña López

Por el apoyo incondicional que me han brindado, porque siempre estuvieron conmigo en las buenas y en las malas. Siempre aconsejándome, para forjarme hacer una persona de bien.

**A mi Novio:**

Sergio Moreno López

Con mucho amor, por todos los bellos momentos que hemos compartido juntos y por su gran amor; por haberme acompañado la mayor parte de mi carrera, por su comprensión, consejos y apoyo incondicional; por hacerme sentir bien cuando más lo necesito.... Gracias.

**A mis amigos:**

Coraquetzali

Fernando

Gorety

Elizabeth

Paola

Robinson

Por su valiosa amistad que nunca me ha faltado y con quienes he compartido los momentos más gratos, pero que también han estado conmigo en momentos difíciles.

**A mis compañeros**

Sin excluir a ninguno, por la convivencia que siempre mantuvimos y por los grandes momentos que vivimos juntos dentro y fuera de la universidad, por que hicieron más placentera mi estancia.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
<b>INDICE DE CUADROS.....</b>	<b>VII</b>
<b>INDICE DE CUADROS DE APENDICE.....</b>	<b>VIII</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	1
Hipótesis.....	3
<b>REVISION DE LITERATURA.....</b>	4
Características generales de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	4
Distribución y Presencia en México.....	4
Características Morfología.....	4
Ciclo Biológico.....	5
Sintomatología. ....	6
Biología y Ecología.....	6
Métodos de Control de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	7
Control Cultural.....	7
Control Químico.....	8
Control Biológico.....	9
Antecedentes Sobre el Uso de Extractos Vegetales Como Fungicidas	10
Grupos Químicos Presentes en los Vegetales.....	12

	13
Gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ).....	
Descripción Botánica.....	13
Distribución Geográfica.....	14
Metabolitos Secundarios.....	15
Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> spp.).....	15
Descripción Botánica.....	15
Distribución Geográfica.....	16
Metabolitos Secundarios.....	16
Damiana ( <i>Turnera diffusa</i> wild).....	16
Descripción Botánica.....	16
Distribución Geográfica.....	17
Metabolitos Secundarios.....	17
<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	19
Ubicación del Experimento.....	19
Obtención de los Fitopatógenos.....	19
Obtención de los Extractos.....	19
Bioensayos.....	20
Variables Evaluadas.....	21
Análisis Estadístico.....	22
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN... ..</b>	23
Inhibición Micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por Efecto de Extractos Vegetales.....	23
Efecto Antifungico del Extracto de Gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ) en el Desarrollo de <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	23
Efecto Antifungico del Extracto de Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> spp.) en el Desarrollo de <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	25
Efecto Antifungico del Extracto Damiana ( <i>Turnera diffusa</i> wild) en el Desarrollo de <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	27

Efecto Antifungico Promedio de los Extractos.....	29
Efecto Antifungico Promedio de los Solventes.....	29
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>32</b>
<b>APÉNDICE.....</b>	<b>42</b>



**ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro		Páginas
1	Composición físico-química de la gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ).	18
2	Concentraciones de extractos y solventes utilizados para estudiar su efecto contra <i>Fusarium oxysporum</i> .	21
3	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por efecto de los extractos de gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ).	24
4	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por efecto de los extractos de Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> spp.)	26
5	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por los extractos de Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> spp.) obtenidos con diferentes métodos de extracción.	26
6	Efecto de los extractos de Damiana a diferentes concentraciones en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	28
7	Efecto de los extractos de Damiana ( <i>Turnera diffusa</i> ) obtenidos con diferentes solventes en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	28

## ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro		Página
1	Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por el extracto de Gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ).	42
2	Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por efecto de extractos de Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> spp.) con etanol y método de extracción.	42
3	Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> por efecto de extractos de Damiana ( <i>Turnera diffusa</i> ), solvente y método de extracción.	43

**ÍNDICE DE FIGURA**

Figura		Página
1	Efecto del extracto de Gobernadora, en etanol sobre la inhibición micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	25
2	Efecto del extracto de Eucalipto, en etanol sobre la inhibición micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	27
3	Efecto del extracto etanolicos de Damiana, sobre la inhibición micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	29
4	Efecto promedio de los extractos obtenido con los dos solventes, en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	30
5	Efecto promedio de los solventes, en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> .	30

## RESUMEN

Una gran cantidad de especies botánicas muestran una acción reguladora sobre plagas y enfermedades, este efecto se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios en diferentes partes de las plantas que le confieren una protección natural. Este trabajo tiene por objetivo evaluar el efecto antifungico *in vitro* de extractos de Gobernadora, Eucalipto y Damiana, a partir de los solventes naturales; agua y etanol, sobre *F. oxysporum* Snyder-Hans. Para la inhibición del hongo se utilizaron diferentes concentraciones basadas en el porcentaje (%), con la Técnica del medio envenenado en placa, utilizando como medio de cultivo PDA. La extracción se obtuvo con etanol y agua a una proporción (1:4) de tejido vegetal: solvente. La extracción de fitoquímicos de las plantas se realizó por infusión en los solventes por 7 h a 60°. Para el análisis de datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar, utilizando tres tratamientos y cuatro repeticiones. La variable a evaluar fue el crecimiento micelial, transformándose a por ciento de inhibición, considerando el crecimiento del testigo como el 100 %. Los resultados muestran que el crecimiento micelial de *F. oxysporum* fue variable dependiendo del extracto: *Larrea tridentata* presentó el mejor efecto, al inhibir un 81.79 %, seguido de *Eucalyptus* sp con una inhibición de 35.39 %, ambos extractos se obtuvieron a partir de etanol al 2.0 %. Los extractos de *L. tridentata* con etanol reducen significativamente el crecimiento en placa de *F. oxysporum* Snyder-Hans.

**Palabras clave:** Control biológico, Extractos vegetales, *F. oxysporum*, Actividad Antifúngica.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades y plagas constituyen la principal limitante de la producción agrícola en México (Cruz- Alcalá *et al.* 2000). De las enfermedades causadas por hongos del suelo destaca por su potencial destructivo *F. oxysporum* Snyd & Hans; patógeno de distribución mundial, cuyos síntomas comienzan con clorosis, marchitez de las hojas superiores, caída de hojas y finalmente puede provocar la muerte de las plantas (Araujo *et al.*, 2008).

Para el control de *F. oxysporum*, se ha implementado el uso de agroquímicos como el Bromuro de metilo, Metan sodio y Metan potasio (Nuez, 1995), debido a su amplio espectro contra patógenos del suelo, sin embargo estos productos generan problemas ambientales; dañan la capa de ozono, deterioran la flora microbiana y eliminan los microorganismos benéficos del suelo. Es por ello que los países desarrollados demandan el uso de productos que promuevan una agricultura sustentable, por lo que se hace necesario buscar nuevas estrategias para el control de esta enfermedad (Lira *et al.*, 2007).

Como una alternativa al control químico de las enfermedades de las plantas se ha implementado el uso del control biológico y como parte de esta estrategia se han usado diferentes microorganismos antagonistas a los fitopatógenos que provocan enfermedades, dentro de ellas las de origen del suelo. Los microorganismos antagonistas han demostrado resultados positivos además de gran interés en los últimos años (Leroux, 2003).

Dentro de los agentes antagonistas reportados como efectivos, se encuentran varias especies del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Streptomyces* (Jaimes *et al.*, 2008). Sin embargo en algunos casos su control no es total, y por ello se están alternando con otros métodos de control.

Otra opción económica y efectiva para el control de enfermedades, es el uso de extractos vegetales, que contienen metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, antivirales y repelentes además de exhibir un efecto fungicida que pueden ser empleadas para controlar diferentes hongos y enfermedades (Celis *et al.* 2008; Hernández *et al.* 2007). Trabajos recientes mostraron resultados positivos como es en el caso de Zapata *et al.* (2003) quienes evaluaron el efecto de extractos acuosos y etanolicos de *Carbón lefaria* (*Cereus deficiens*) para controlar *Phytophthora infestans*, reportando que los extractos etanolicos reducen del 70 al 94% el crecimiento micelial del patógeno. López *et al.* (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*) y gobernadora (*Larrea tridentata*), sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, observando que los extractos de ajo inhiben el 100% del crecimiento del hongo.

Considerando la importancia de los extractos vegetales como una alternativa para el control de hongos fitopatógenos, este trabajo tuvo como objetivo: Evaluar el efecto antifungico *in vitro* de extractos de Gobernadora (*Larrea tridentata*), Eucalipto (*Eucalipto spp*) y Damiana (*Turnera diffusa*), a partir de los solventes; agua y etanol, sobre *F. oxysporum* Snyd Hans.

## Hipótesis

Al menos uno de los extractos estudiados de Gobernadora (*Larrea tridentata*), Eucalipto (*Eucalyptus spp*) y Damiana (*Turnera diffusa wild*), extraídos en solventes como agua y etanol tendrá efecto en la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* Snyd & Hans.

## REVISION DE LITERATURA

### Características Generales de *Fusarium oxysporum* Snyder & Hans

#### Distribución y Presencia en México

De las enfermedades causadas por hongos del suelo destacan por su potencial destructivo *F. oxysporum*, que es un patógeno cosmopolita de distribución mundial y causante de la enfermedad llamada "Marchitez vascular". Este patógeno ha sido reportado en las principales regiones productoras de jitomate de más de 32 países (Cait, *et al.*, 2003). En México el primer reporte de *F. oxysporum* fue registrado en el estado de Sinaloa, donde ha afectado sustancialmente la producción de jitomate en las principales regiones productoras (Valenzuela *et al.*, 1996). Las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad llegan a ser del 60 % del rendimiento, además de mermar la calidad de los frutos (Ascencio-Álvarez, *et al.*, 2008).

#### Características Morfológicas

*F. oxysporum* produce tres tipos de esporas asexuales. Los microconidias (conformados por una o dos células) son las más frecuentes y las únicas que se pueden producir en el interior de las haces vasculares de las plantas afectadas (Garcés *et al.*, 2001). Otro tipo de esporas son los macro conidios los cuales son curvos, de tres a cinco células y formados en esporoquios en la superficie de las plantas. Se han observado que la mayoría de los macroconidios de los aislamientos de esta especie presentan diversos tamaños que varían entre 20.28 y 27.04  $\mu\text{m}$  de ancho, su forma es curva y presenta de 3 a 5 septas transversales (Lugo y Sanabria, 2001). Por otro lado, las clamidosporas tienen una o dos células redondeadas, son de pared gruesa y se producen en la parte terminal o intercalar en el micelio viejo o



en macro conidios. Este tipo de esporas son estructuras de supervivencia y pueden sobrevivir en el suelo durante más de cinco años dependiendo del clima. Estas estructuras germinan y penetran a través de las heridas que se forman al emerger las raíces laterales o penetran al tejido joven en la zona de elongación (Roncero *et al.*, 2000). El micelio avanza intercelularmente y alcanza la región del xilema. El hongo se desarrolla en las traqueidas, vasos y células parenquimatosas. El micelio se ramifica y produce microconidias, las células se desprenden y son arrastradas hacia arriba por corriente de savia, vuelven a germinar y producen más y microconidias (Haglund y Kraft, 2001).

### **Ciclo Biológico**

El ciclo de la enfermedad se inicia con la presencia del inoculo en el suelo o residuos de cosecha del inoculo constituido por hifas, esporas o clamidosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate; los tubos germinativos del hongo penetran la epidermis de la raíz directamente o por las heridas, pasan a la corteza y a la endodermis, y una vez dentro del hospedante se mueven por colonización de los vasos del xilema produciendo la oclusión del sistema vascular de la planta. Su disseminación en el campo se produce a través de material de propagación infectado, fragmentos de plantas enfermas y movimientos de suelo infectado con clamidosporas de *F. oxysporum* las cuales pueden sobrevivir en este por más de 10 años (Navarro y Park, 1999).

## **Sintomatología**

Los síntomas de las plantas pueden aparecer en la etapa de plántula, al inicio de la floración o durante la formación de los primeros frutos, observándose amarillamiento en las hojas inferiores generalmente unilaterales, o en las hojas inferiores y superiores de un solo lado de la planta, seguido de un marchitamiento y finalmente la muerte de la misma (Agrios, 2001). Otro síntoma característico se observa como necrosis de color marrón en los vasos conductores de xilema, la cual avanza desde el nivel del suelo hasta la parte más alta de la planta. La necrosis es también unilateral y coincide con el amarillamiento del follaje. Cuando las raíces y tallos son invadidos por el hongo, los síntomas se muestran como una pudrición oscura, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas (Wayne, 2004). También puede manifestarse una marchitez cuando las hojas todavía están verdes, este síntoma puede ser reversible en los primeros estadios, después se hace permanente y finalmente la planta muere (Cooke *et al.*, 2003). Las plantas infectadas también pueden manifestar amarillamiento en las hojas inferiores de la planta y finalmente termina por secar la planta, la que puede morir en dos a cuatro semanas después de la infección (Ploetz *et al.*, 2000). Después que la planta muere, y bajo condiciones de ambiente húmedo, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo.

## **Biología y Ecología**

La incidencia de la marchitez vascular es severa en cultivos desarrollados bajo condiciones de invernadero. *F. oxysporum* es un hongo de temperatura cálida; el

desarrollo óptimo se presenta a 20 °C aunque el rango varía de 12 a 28°C. Esta temperatura, acompañada de alta humedad relativa, días cortos de baja intensidad lumínica favorecen el desarrollo de la enfermedad. Otros factores son los suelos ácidos, arenosos, con bajo pH, pobres en nitrógeno y alto suministro de potasio (Ascencio-Álvarez, 2008). La marchitez del jitomate es una enfermedad muy común y destructiva, puede causar pérdidas severas en los cultivos susceptibles. Los daños se presentan con mayor severidad cuando la planta es sometida a periodos de estrés en la etapa de plántula floración o fructificación (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996). El hongo puede ser diseminado a través de semilla, estocones, plántulas infectadas, maquinaria agrícola, herramientas, agua de riego o cualquier medio que facilite el movimiento del suelo (Carrillo *et al.*, 2003).

### **Métodos de Control de *Fusarium oxysporum***

#### **Control Cultural**

El control cultural consiste en recurrir a modificaciones o cambios en las prácticas agrícolas, desfavoreciendo las fases de la enfermedad, disminuyendo así el inoculo viable a la cosecha. Para ello es necesario eliminar o quemar los restos de cosecha, con la finalidad de disminuir la presencia del micelio; conidios y clamidosporas del hongo presentes en los restos infectados después de la cosecha.

Terry *et al.* (2007) mencionan que el uso de prácticas inadecuadas para el manejo de los suelos y cultivos, entre las cuales se encuentran la aplicación excesiva de fertilizantes minerales para mejorar la nutrición vegetal, ha conducido al deterioro de las características químicas, físicas y biológicas de los suelos y a favorecido la

susceptibilidad de las plantas al ataque de plagas, causando grandes problemas en los cultivos.

Mendoza y Pinto (1983) recomiendan como medida preventiva a la enfermedad causada por este hongo el tratamiento de la semilla con agua caliente por 20 min a 50°C, lo que elimina al patógeno, además, recomiendan fertilizar adecuadamente y aplicar riegos ligeros frecuentes para tener una buena humedad en el suelo, y no los riegos pesados.

En los últimos años se está implementando las siguientes recomendaciones; Uso semillas sanas o tratadas, esterilización de suelos, tratamiento de las plántulas antes del trasplante con un fungicida sistémico (por inmersión de la planta), disminuir la dosis de nitrógeno e incrementar la dosis de potasio en la fertilización, aplicar cal hidratada al suelo, rotación de cultivos por 3 a 4 años y la eliminación plantas enfermas.

### **Control Químico**

El uso de agroquímicos como el bromuro de metilo, metan sódico y metan potásico han sido utilizados como estrategias para el control de fitopatógenos de suelo por su amplio espectro (Ohr *et al.*, 1996). Estos productos son empleados en las principales zonas productoras de jitomate para el control de *F.oxysporum*, que además de reducir significativamente la incidencia de enfermedades también favorecen la disminución del uso de herbicidas, de tal manera que han sido usados en el control de malezas. Sin embargo el uso de estos fungicidas tiene un profundo

efecto negativo en el ambiente principalmente a la capa de ozono debido a los residuos de su uso (Ohr *et al.*, 1996; Nelson *et al.*, 1993).

Por lo anterior, se han evaluado diversos productos químicos alternos y menos tóxicos para el control de enfermedades con origen en el suelo. El tratamiento de plántulas con Benomyl (Fungicida sistémico) ha sido efectivo en el control de *F.oxysporum*; Mihuta-Grimm *et al.*, (1990), lograron un óptimo control en producción de plántulas de jitomate usando bajas concentraciones de fungicidas (0.090 g a.i/L).

### **Control Biológico**

Una alternativa ambientalmente sana de manejo de las enfermedades es el control biológico y como parte de esa estrategia se han usado diferentes organismos antagonistas a los fitopatógenos como son varias especies del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, y *Streptomyces* (Agris, 2001; Nuez, 1995 y Jaimes *et al.*, 2008).

Además de los organismos benéficos o antagonistas de fitopatógenos, el uso de extractos vegetales también es importante en el control o manejo de enfermedades causadas por hongos en jitomate. Al respecto Rodríguez *et al.*, (2002) citan que las inmersiones del sistema radical de las plántulas de jitomate en extractos acuosos de semillas de *Citrus paradisi* (Citrex), antes del trasplante y posteriores aplicaciones del producto al suelo cada semana logra reducir la marchitez por *F. oxysporum* hasta en 85 %. Lo anterior representa una alternativa importante en los programas de manejo de enfermedades causadas por patógenos del suelo.

### **Antecedentes Sobre el Uso de Extractos Vegetales Como Fungicidas**

Se ha descrito una gran cantidad de trabajos relacionados con el efecto Antifungico que presentan algunas plantas.

Montes *et al.* (2000) mencionan que se han estudiado alrededor de 206 especies de plantas contra 26 especies de hongos fitopatógenos, observándose que algunas de ellas tienen efecto durante la germinación de esporas, desarrollo del micelio y esporulación tanto en pruebas de invernadero como de campo. Así mismo, mencionan que se ha logrado formular productos orgánicos a partir de las plantas en presentación de extractos acuosos y hexamicos, polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios antifungicos. En términos generales, mencionan que, entre 21 y 32 % de las plantas probadas interactúan con los hongos y las respuestas de los patógenos varían desde la estimulación biológica hasta su total inhibición.

Zapata *et al.* (2003) evaluaron el efecto de los extractos sobre el desarrollo *in vitro* de 10 hongos fitopatógenos creciendo en Papa-Dextrosa-Agar con 0, 25, 50 y 75 % de los extractos de *Carbón lefaria* (*Cereus deficiens* Otto & Diert) mediante extracciones etanolicas desgrasadas (EDD), etanolicas sin desgrasar (EESD), y acuosas (EA). Los resultados mostraron un efecto significativo de los extractos sobre la reducción del crecimiento micelial de todos los hongos ensayados, especialmente de *Phytophthora infestans* y *Sclerotium rolfsii*, donde se obtuvieron reducciones del 70 a 94 % en el crecimiento micelial. El mayor efecto lo mostraron EDD Y EESD. El efecto reductor de los extractos fue directamente proporcional a la concentración utilizada.

Los resultados indican el potencial de *C. deficiens* como controlador de hongos fitopatógenos.

López *et al.* (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), gobernadora (*Larrea tridentata*), hojaseñ (*Flourensia cernua*), clavo (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y mango (*Mangifera indica*) sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*. El fungicida tiabendazol a una concentración de 100 ppm, inhibió por completo el crecimiento de *F. oxysporum* y *R. solani*; en *V. dahliae* la inhibición varió de 80.7 % a 90 % con 144 y 72 h de incubación respectivamente, los extractos de clavo y ajo en sus dos concentraciones inhibió el 100 % del crecimiento de los tres hongos después de 72 h de incubación. Excepto en *V. dahliae* con 144 h de incubación, todos los extractos mostraron la tendencia a incrementar su efecto inhibitorio con el aumento de las concentraciones dentro del mismo periodo de incubación dentro de la misma concentración. Los extractos con el mayor efecto inhibitorio sobre las tres especies de hongos fueron los de clavo, ajo y gobernadora.

Gamboa *et al.* (2003) evaluaron el efecto de inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos matanólicos de hojaseñ (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla (*Bouvardia ternifolia*), a diferentes dosis (4000, 8000, 12000, 16000 y 20000 ppm). Los resultados indican que los tres extractos mostraron un efecto inhibitorio en el crecimiento de *R. solani* desde la dosis de 4,000 además, se logró inhibir hasta en un 86.2 % el crecimiento de *P. infestans* con el extracto de *F. cernua*;

el extracto de *O. majorana* mostro el efecto fungicida desde la concentración de 8,000 ppm; el efecto fungistático sobre este patógeno se conservo a las 96 h con el extracto de *F. cernua* y *B. ternifolia* a la mayor dosis con un 67.2 % y de un 34.9 % respectivamente.

Salazar *et al.* (1990) mostraron que la resina de la planta rastrera conocida comúnmente como alfombrilla (*Drimaria arenarioides*) al ser aplicada sobre los hongos *Alternaria solani* y *R. solani* inhibió su crecimiento, este extracto fue más eficiente contra *F. solani*, ya que fue inhibido hasta en un 85% a la concentración de 5000 ppm.

Garza *et al.* (1996), demostraron que los extractos de la gobernadora a base de etanol, cloroformo e hidróxido de sodio inhibieron el desarrollo de *Rhizoctonia solani* bajo condiciones *in vitro* con los tres extractos de *L. tridentata*.

### **Grupos Químicos Presentes en los Extractos Vegetales**

La inhibición del crecimiento micelial exhibida por los extractos vegetales se debe a la presencia de algunos metabolitos secundarios como; alcaloides, taninos, flavonoides, quinonas y lactonas, los cuales son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana, antiviral, repelente y antioxidante (Montejo *et al.*, 2009; Piacentea *et al.*, 2002; Camargo *et al.*, 2008, Juárez *et al.*, 2010, Hernández *et al.*, 2011).

La enorme diversidad de metabolitos secundarios y propiedades biológicas presentes en los vegetales, todavía son materia de estudio sumamente amplia. El conocimiento limitado que se tiene actualmente al respecto, da lugar a comenzar



ensayos con plantas de casi cualquier tipo (Montes, 1996). Algunas familias de plantas pueden ser más viables para su estudio, como es el caso de las **Solanaceae** con alto contenido de alcaloides o las **Mimosaceae** con muchas especies ricas en taninos, u las **Lamiaceae** y **Meliaceae** con amplia diversidad de terpenoides (Domínguez, 1970).

Para la producción de principios activos, existen factores que determinan variabilidad cualitativa y cuantitativa de los metabolitos. Una planta puede tener diferente concentración de un químico en sus diferentes partes; raíz, hojas, flores y frutos e inclusive puede estar ausente en una o en varias partes, por lo que al coleccionar es conveniente tomar muestras integrales (Romero, 1993); así también, conociendo el contenido químico de los vegetales, se les puede dar un amplio uso, ya sea como insecticida, fungicida, nematocida, entre otros (Cruz, 1993).

### **Gobernadora (*Larrea tridentata* D.C. Coville.)**

#### **Descripción Botánica**

La gobernadora es un arbusto muy común y ampliamente distribuido en el desierto de Norteamérica, se estima que cubre alrededor de 50 millones de hectáreas (González, 1968). Se ha observado que la altura de la gobernadora varía de 30 a 160 cm, con una cobertura un poco mayor que su altura. Una planta típica, en condiciones normales mide 45 cm, con una cobertura de 60 cm. Esta planta contiene aproximadamente 50 g de hojas y tallos que representa alrededor de 3/10 de su peso total (Botkin, 1949). Su edad puede exceder los 100 años, aunque unas plantas pueden sobrevivir cientos o miles de años a través de la reproducción

vegetativa asexual, al producir brotes en las raíces que se convierten en nuevas plantas. No hay tallo principal, pero las ramas gruesas crecen vertical u oblicuamente desde la corona radicular y se hace dicotómica lateralmente (Ristaino y Thomas, 1997). Las hojas son pequeñas y bifoliadas con peciolo cortos y crecen opuestas en las ramas, presentan flores amarillas al final del invierno e inicio de la primavera en terminaciones de retoño jóvenes como capullos solitarios con cinco pétalos. Sus frutos son pequeños de 4 a 7 mm de diámetro, con una cubierta vellosa y contienen cinco semillas (Botkin, 1949).

### **Distribución Geográfica**

La gobernadora (*L. tridentata* Cov.) pertenece a la familia de las **Zigophyllaceae**, arbusto xerofito de olor fuerte. Es un arbusto muy común y se encuentra ampliamente distribuido en el desierto de Norteamérica (Rzedowski y Calderón, 2002). En México, la gobernadora se encuentra localizada en los estados del Norte, en partes del desierto sonorense, incluyendo los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora y en el desierto Chihuahuense incluyendo los estados de Chihuahua, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí y Durango. Se estima que el 25 % del territorio nacional (500, 000 km<sup>2</sup>) ésta cubierto con este arbusto, presenta diferentes razas, variables en el número cromosómico  $n=13$  (diploide, en el desierto Chihuahuense),  $n=26$  (tetraploide, en el desierto Sonorense) y  $n=39$  (Hexaploide en el desierto de Mojave) (Hosseini y Maldonado, 1982).

## **Metabolitos Secundarios**

Los principales compuestos en la resina reportados hasta ahora en la literatura son muy numerosos; lignanos, fenoles, flavonoides, aminoácidos y minerales. El ácido nordihidroguaietéico (NDGA), es uno de los antioxidantes mejor conocido (Tejada, 1983). Presenta propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobiales y es inhibidor de enzimas, con una concentración de cerca de 50 % de la resina que forma parte de un 10 a 15 % del peso seco de las hojas.

Treviño-Cueto *et al.*, (2006), realizaron caracterizaciones físico-químicas de la planta de gobernadora (Cuadro 1).

## **Eucalipto (*Eucalyptus* spp.)**

### **Descripción Botánica**

Es un árbol que alcanza una altura de hasta de 100 m, un diámetro de hasta de 2.5 m, con un tronco recto y cilíndrico, con raíz pivotante que puede penetrar hasta 10 m, de profundidad. Desarrolla numerosas y robustas raíces laterales que se extienden ampliamente. La corteza externa es de color café plumizo y de consistencia escamosa. La corteza interna es de color café claro y de consistencia lisa. Las hojas cuando joven son opuestas y con ramitas angulares, pero adultas son alternas, lanceoladas, coriáceas y de color verde azulado. Las flores son de color blanco y amarilloso. El fruto es una capsula que se abre en el ápice. Crecen en las formaciones vegetales de bosque húmedo bajo, bosque seco montano, generalmente se encuentra en plantaciones puras (Pulgar, 1955).

### **Distribución Geográfica**

Especie originaria de Australia y Tasmania. Fuera de su distribución natural, ha sido plantado en España, Portugal, California (E.U.), India, Marruecos, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia. En Colombia se halla en la sabana de Bogotá y en los departamentos de Boyacá, Antioquia y Caldas (Rzedowski y Calderón, 2002).

En México se distribuye en los estados de Chiapas, Campeche, Veracruz, Oaxaca, Distrito Federal, San Luis Potosí, Jalisco, Aguascalientes y Durango (FAO, 2002).

### **Metabolitos Secundarios**

Las hojas y las raíces de las especies del género *Eucalyptus* contienen los ácidos: clorogenico, elagico, cafeinico, ferulico, galico, gentsico. También contienen aceites esenciales ricos en: pineno, alfa-pineno, alfa-felandreno, beta-pineno, gamma-terpineno, canfeno, pineol, citriodorol, globulol y linalol. El aceite esencial está constituido principalmente por taninos y flavonoides (Celis *et al.*, 2008)

### **Damiana (*Turnera diffusa wild*)**

#### **Descripción Botánica**

La damiana es un arbusto pequeño de hasta 2 metros de altura, con ramas de color café, hojas cortas pecioladas, oblongas a rambo-ovaladas, alternas y estipuladas, 1-2 cm de largo cuneadas de la base, acutadas a obtusas en el ápice, pilosas a tomentosas en el envés verde oscuro y a menudo glabrosa; cáliz de 4-5 mm de largo amarillentas, pétalos amarillo brillantes o naranja amarillos, 8 a 12 mm de largo, capsula de 2.5- 5 mm de largo y flores hermafroditas pequeñas y amarillas

con semillas dentro del fruto (Fuentes, 1997). Planta silvestre, asociada a bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo y bosque de encino. Habita en climas semiseco y templado, entre los 1000 y los 2100 msnm (Domínguez, 1978).

### **Distribución Geográfica**

Crece en terrenos áridos de América tropical como Antillas, Brasil, Bolivia, California, Texas y especialmente México, donde se denomina té mexicano (Montejo *et al*, 2009).

### **Metabolitos Secundarios**

Los principales compuestos de la *Turnera diffusa* wild, que destacan por su mayor contenido son alcaloides, seguido por los taninos, flavonoides, quinonas y lactonas. (Montejo *et al.*, 2009; Piacente *et al.*, 2002; Camargo *et al.*, 2008, y Juárez *et al.*, 2010).

**Cuadro 1.** Composición físico-química de la gobernadora (*Larrea tridentata*).

Componentes	%
Humedad	4.6
Sólidos totales	85
Azúcares reductores	1.3
Azúcares no reductores	9
Proteínas	0.01
Grasas	3.1
Fibra crudo	10.1
Ceniza	8.1
Taninos condensados	36.01
Taninos hidrolizables	19.2
Total	100.00

\* Valores expresados en porcentaje de materia seca.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del Experimento

La presente investigación se desarrollo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Ubicada en el Blvd. Antonio Narro #1923. Buenavista. Saltillo, Coahuila, México.

### Obtención de Fitopatógenos.

El material fungoso fue obtenido de plantas enfermas con síntomas de pudriciones radiculares en tomate. Los aislamientos de *F. oxysporum* se realizaron en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) y se purificaron por aislamientos monosporicos. Este microorganismo fue identificado morfológicamente con las descripciones citadas por Nelson *et al.* (1983) para *F. oxysporum*. Las cepas se codificaron y se mantuvieron en conservación a 4±2°C.

### Obtención de los Extractos

Los extractos se obtuvieron de las hojas de las plantas de Gobernadora (*Larreatridentata*), Eucalipto (*Eucalyptus* sp.) y Damiana (*Turnera diffusa*), las cuales fueron secadas a temperatura ambiente y posteriormente se molieron para obtener un polvo fino, conservándolas en bolsas negras de polietileno, estas fueron etiquetadas y conservadas en laboratorio. Los solventes empleados fueron Agua y Etanol a una proporción 1:4 (Tejido vegetal: Extractante). El método de extracción empleado fue por Infusión, llevándose a cabo en la facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Autónoma de Coahuila.

## Bioensayos

Como solución base se tomó el medio de cultivo PDA. Se prepararon medios en un matraz Erlenmeyer con capacidad para 1L, se agregó 34.1 g del medio PDA y 500 ml de agua destilada, agitando y calentando para evitar la formación de grumos y obtener una mejor disolución y consistencia, en seguida se procedió a aforar a 900ml de agua destilada agitando constantemente, se pasó a matraces de 250 ml donde se agregó 150 ml del medio a cada uno de estos, los cuales fueron sellados con algodón y papel aluminio, posteriormente se esterilizaron en la olla de presión por 20 min a 15 libras de presión, una vez esterilizada se dejó reposar, y cuando la solución alcanzó una temperatura manipulable, fueron llevadas a la cámara de flujo laminar donde se agregaron los extractos acuosos y etanólicos de Gobernadora (*Larrea tridentata*), Eucalipto (*Eucalyptus spp*) y Damiana (*Turnera diffusa wild*), previamente filtrados con un filtro de 2 mm, con las diferentes concentraciones como se muestra en el cuadro 2. Se procedió a vaciar en las cajas Petri cerca del mechero, y cuando estas se solidificaron fueron selladas y etiquetadas con el tratamiento correspondiente.

La siembra del hongo se realizó en la cámara de flujo laminar y cerca de la flama de un mechero para evitar contaminación. Para incrementar el hongo, se extrajeron fragmentos del inóculo de *F. oxysporum* con medios de cultivo de una colonia de siete días de edad con un saca bocado de 5 mm de diámetro, colocándose este disco en el centro de las cajas Petri con medio PDA en seguida las cajas se sellaron e incubaron a  $26 \pm 2$  °C por 4 días. Posteriormente se sembró el hongo en las cajas Petri que contenían el medio PDA y los extractos etanólicos y



acuosos, en seguida las cajas fueron selladas y etiquetadas con la fecha y el número de tratamiento y repeticiones, e incubadas a temperatura ambiente ( $26 \pm 2$  °C), durante 15 días.

La evaluación se realizó cuando el testigo cubrió la totalidad de la caja Petri, midiendo con un Vernier el diámetro de crecimiento de la colonia, en forma de cruz, obteniendo el promedio del crecimiento.

**Cuadro 2.** Concentraciones de extractos y solventes utilizados para estudiar su efecto contra *Fusarium oxysporum*.

<b>Extracto/solvente</b>	<b>Concentración (%)</b>
Gobernadora/Agua	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0
Gobernadora/Etanol	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0
Eucalipto/Agua	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0
Eucalipto/Etanol	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0
Damiana/Agua	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0
Damiana/Etanol	0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0

### **Variables Evaluadas**

La variable a medir fue el crecimiento micelial. Transformándose este a por ciento de inhibición, considerando el crecimiento del testigo como el 100% de desarrollo.

### **Análisis Estadístico**

Para el análisis de datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar, utilizando tres tratamientos y cuatro repeticiones. Aplicando un análisis de varianza y determinando diferencias de medias por medio de la prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Inhibición Micelial de *Fusarium oxysporum* por Efecto de Extractos Vegetales**

El análisis de varianza indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por lo tanto podemos indicar que existe un comportamiento diferente entre los extractos y su respuesta en la inhibición del crecimiento del hongo. El efecto de la inhibición sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, de cada extracto con sus respectivos solventes fue variable. A continuación se describen los resultados obtenidos con los extractos de cada especie vegetal estudiada.

Los datos presentados para el extracto de Gobernadora y Damiana comprenden los obtenidos con los solventes etanol y agua, mientras que la de Eucalipto solo se presentan extracciones con etanol, debido a que el Eucalipto con agua mostro un alto nivel de contaminación aun y cuando el extracto se pasó por un sistema de filtración.

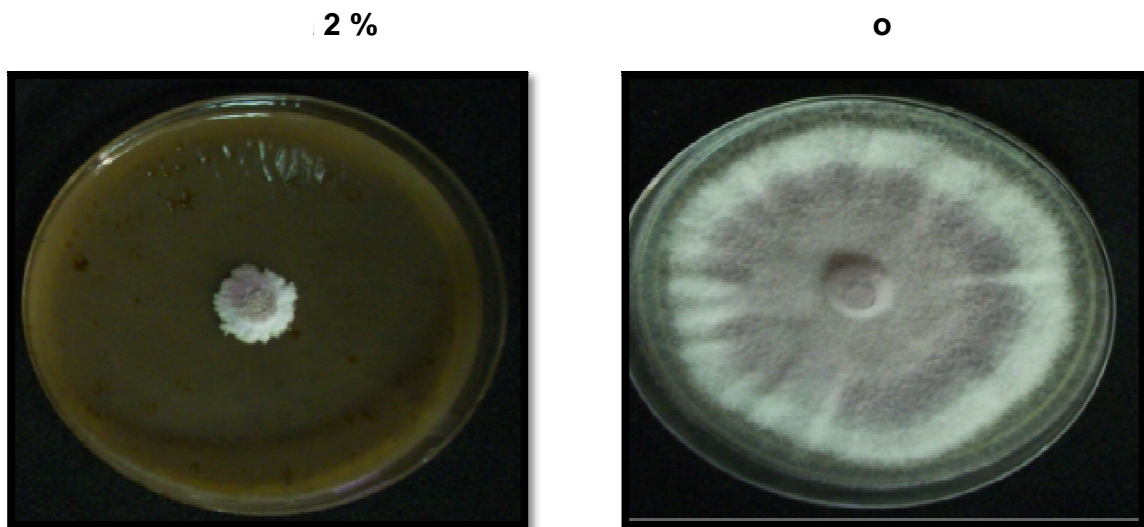
### **Efecto Antifungico del Extracto Gobernadora (*Larrea tridentata*) en el Desarrollo de *Fusarium oxysporum***

El por ciento de inhibición del crecimiento micelial del hongo vario desde 0 (testigo) hasta un 81.79% con el extracto al 2% (cuadro 3). El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 1 del Apéndice). La prueba de medias de Tukey (0.05) indica que todos los tratamientos con el extracto del vegetal presentan una inhibición estadísticamente diferente a la observada en el Testigo. Sin embargo, los mejores tratamientos son: el extracto de gobernadora a las concentraciones de 1, 1.5 y 2.0 % con un efecto de 81.37, 81.39 y 81.79 % de inhibición micelial de *F. oxysporum* (Cuadro 3).

En la Figura 1 se puede observar el efecto inhibitorio del extracto de gobernadora al 2% en comparación al testigo. Resultados similares obtenidos por López *et al.*, (2005) quienes al aplicar 250 ppm del extracto encontraron un 96.2 % de inhibición de *F. oxysporum*, en relación al testigo. De la cruz, (2003) encontró una inhibición del 68.31 %, a una concentración del 2.0 % del extracto, en relación al testigo.

**Cuadro 3.** Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por efecto de los extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*).

Tratamiento	% Concentración	% inhibición	Agrupamiento Tukey
<i>Larrea tridentata</i>	2.00	81.79	A
<i>Larrea tridentata</i>	1.50	81.39	A
<i>Larrea tridentata</i>	1.00	81.37	A
<i>Larrea tridentata</i>	0.50	78.37	B
<i>Larrea tridentata</i>	0.25	74.66	C
<i>Larrea tridentata</i>	0.10	64.24	D
Testigo	0.00	0.00	E



**Figura 1.** Efecto del extracto de Gobernadora, en etanol sobre la inhibición micelial de *Fusarium oxysporum*.

### **Efecto Antifúngico del Extracto de Eucalipto (*Eucalyptus* spp.) en el Desarrollo de *Fusarium oxysporum***

En los extractos con etanol el por ciento de inhibición del crecimiento micelial del hongo vario de 0 (testigo) a 35.39 % con la concentración del 2% (cuadro 4). El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 2 del Apéndice). La prueba de medias de Tukey (0.05) indica que aunque todos los tratamientos con el extracto de Eucalipto presentaron una inhibición estadísticamente superior a la observada en el Testigo (Cuadro 4), la inhibición del crecimiento del hongo obtenida a la concentración al 2% es significativamente la mejor. En la figura 2 se puede observar el efecto inhibitorio que presenta el extracto de Eucalipto al 2% en comparación al testigo y a las demás concentraciones. Los resultados también indican que la inhibición que se obtiene con los extractos por infusión es estadísticamente superior a los observados con otros métodos de extracción

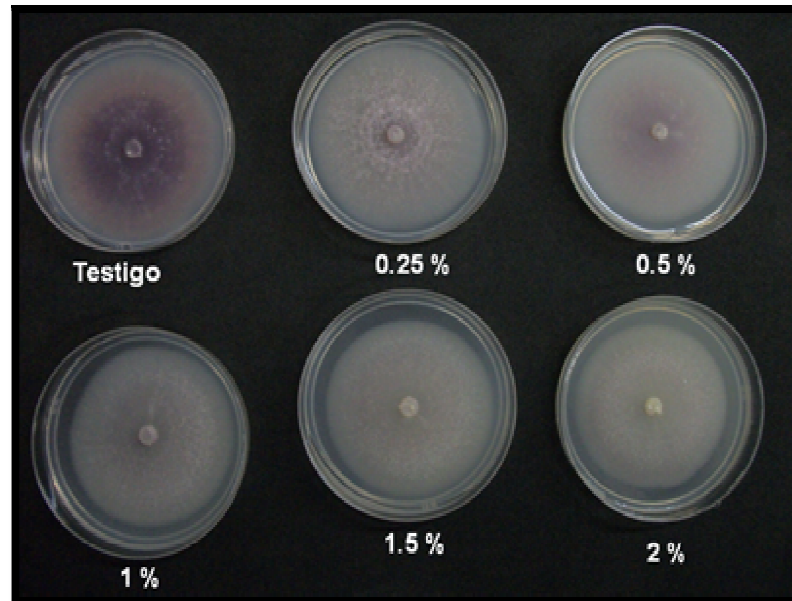
(Cuadro5). Estos resultados coinciden con los encontrados por Tequida-Meneses *et al.* (2002) al encontrar una inhibición de 42.6 %, a una concentración de 2 % del extracto, en relación al testigo. Por el contrario Marcos, (1996) encontró una inhibición micelial del 25.92 % del hongo, a una concentración de 200 ppm del extracto, en relación al testigo.

**Cuadro 4.** Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por efecto de los extractos de Eucalipto (*Eucalyptus* spp.)

Tratamiento	Concentración %	% inhibición	Agrupamiento Tukey
<i>Eucalyptus</i> sp.	2.00	35.39	A
<i>Eucalyptus</i> sp.	1.50	28.16	B
<i>Eucalyptus</i> sp.	1.00	26.85	B
<i>Eucalyptus</i> sp.	0.50	18.19	C
<i>Eucalyptus</i> sp.	0.25	16.15	C
Testigo	0.00	0.00	D

**Cuadro 5.** Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por los extractos de Eucalipto (*Eucalyptus* spp.) obtenidos con diferentes métodos de extracción.

Método	Media	Grupo Tukey
Infusión	25.85	A
Reflujo	18.27	B
Ultrasonido	18.24	B



**Figura 2.** Efecto del extracto de Eucalipto, en etanol sobre la inhibición micelial de *Fusarium oxysporum*.

### **Efecto Antifúngico del Extracto de Damiana (*Turnera diffusa wild*) en el Desarrollo de *Fusarium oxysporum***

El por ciento de inhibición del crecimiento micelial del hongo vario de 0 (testigo) a 10.54 % con la concentración del 2% (cuadro 6). Los resultados obtenidos muestran las diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3 del Apéndice). También se puede observar las diferencias que se presentan en los diferentes solventes empleados (cuadro 7). La prueba de medias de Tukey (0.05) indica que todos los tratamientos con el extracto de Damiana presentan una inhibición estadísticamente superior a la observada en el Testigo, sin embargo, el mejor efecto se observa en las concentraciones de 2, 1.5 y 1.0% las que son estadísticamente similares entre sí (Cuadro 6). Estos resultados no coinciden con los encontrados por Rodríguez *et al.* (2000 y 2002) y Pérez (2010) quienes señalaron que los extractos etanolicos inhiben el crecimiento micelial en un 82 a 85 %, al aplicar concentraciones

de 1.5 %. Mientras que Zapata *et al.* (2003) demostraron que los extractos etanolicos 1.0 y 1.5 % inhiben 75.3 % el crecimiento micelial de *F. oxysporum*.

**Cuadro 6.** Efecto de los extractos de Damiana a diferentes concentraciones en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusariumoxysporum*.

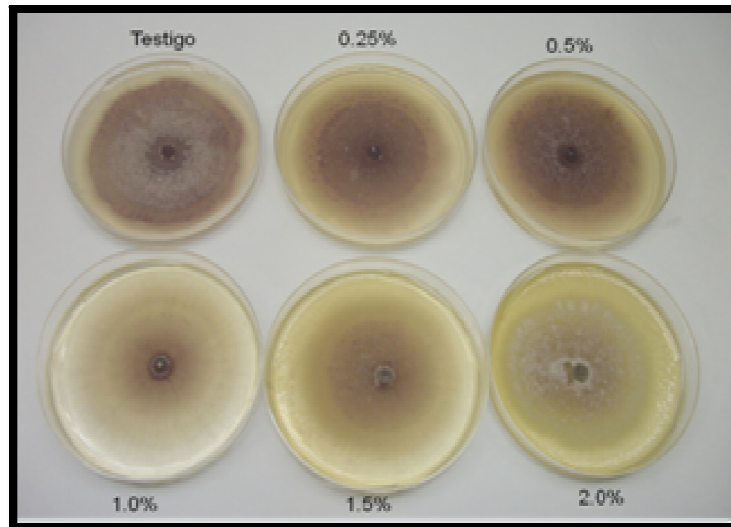
Tratamiento	Concentración %	% inhibición	Agrupamiento Tukey
<i>Turnera diffusa</i>	2.00	10.54	A
<i>Turnera diffusa</i>	1.50	9.47	AB
<i>Turnera diffusa</i>	1.00	9.32	AB
<i>Turnera diffusa</i>	0.50	8.42	B
<i>Turnera diffusa</i>	0.25	8.17	B
Testigo	0.00	0.00	C

En la figura 3, se observa que el efecto en el crecimiento de *F. oxysporum* es diferente de acuerdo a la concentración empleada, aunque en todos los casos se observan disminución del crecimiento con respecto al testigo.

**Cuadro 7.** Efecto de los extractos de Damiana (*Turnera diffusa*) obtenidos con diferentes solventes en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusariumoxysporum*.

Solvente	Media	Grupo Tukey
Etanol	2.65	A
Agua	1.14	B





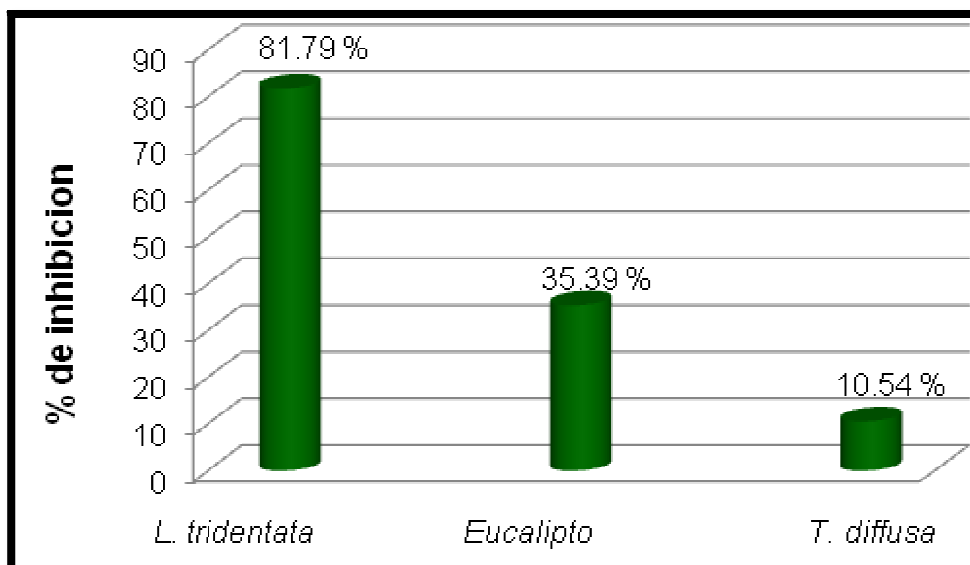
**Figura 3.** Efecto del extracto etanolico de Damiana, sobre la inhibición micelial de *Fusarium oxysporum*.

#### **Efecto Antifungico Promedio de los Extractos**

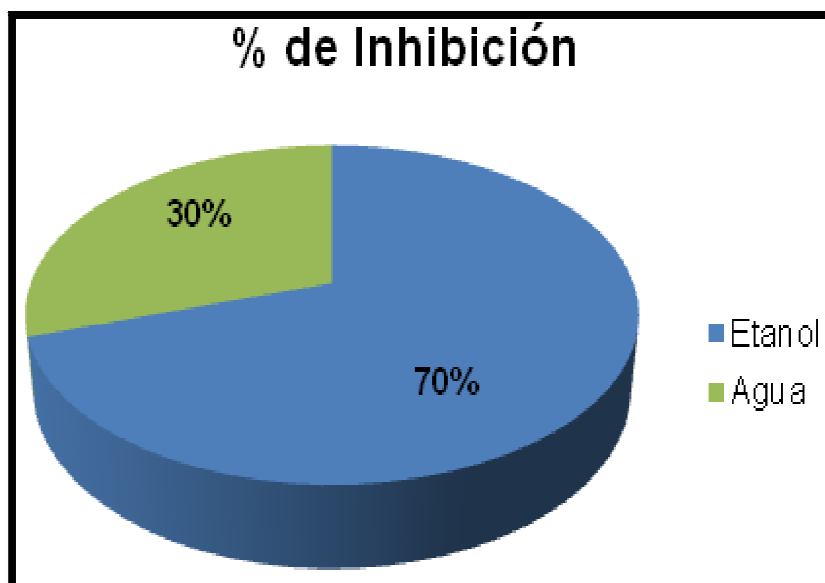
La inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* con los extractos fue variable (figura 4). En promedio, la inhibición vario desde 81.79 % obtenido por la gobernadora hasta 10.54 % con damiana.

#### **Efecto Antifungico Promedio de los Solventes**

Al comparar el efecto inhibitorio de *F. oxysporum* con los dos solventes se observan diferencias significativas (figura 5). El mayor porcentaje de inhibición se obtuvo con la extracción de etanol con un promedio de 70%, mientras que la extracción con agua presento únicamente el 30% de inhibición respectivamente.



**Figura 4.** Efecto promedio de los extractos obtenido con los dos solventes, en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*.



**Figura 5.** Efecto promedio de los solventes, en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*.

## CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales del laboratorio y el medio de cultivo PDA se demuestra que:

*Fusarium oxysporum* Snyder-Hansen es sensible a los extractos vegetales de Gobernadora, Eucalipto y Damiana.

Los extractos con una mejor actividad inhibitoria del desarrollo micelial de *F. oxysporum* son; Gobernadora (*Larrea tridentata*) con un 81.79 %, seguido del Eucalipto (*Eucalyptus sp.*) con 35.39 %.

En general los extractos etanolicos, mostraron el mayor porcentaje inhibitorio (70%) del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Snyder-Hansen en placas de cultivo desarrolladas en el laboratorio, en comparación a los extractos acuosos.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 2001. Fitopatología. Ed. Noriega. México. 833 pp.
- Araujo, D., Rodríguez, D. y Sanabria, M.E. 2008. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, causante del Mal de Panamá a algunos Extractos vegetales y Fungicidas. Fitopatología venezolana. 21:2-8.
- Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F. y Rodríguez-Herrera, A. 2008. Marchitez Vascular del Tomate: I. Presencia de Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersicum* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 26(2):114-120.
- Botkin, C. W., Duisberg, P.C. 1949. The Nordihidroguajaretic Acid content of the Creotebush. Bull, 349, New México State College, 15 p.
- Cait, G., Gale, I.R., Schneider, R.W., Kistler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S y Miyao, E.M. 2003. Origin of 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. Phytopathology. 93:1014-1022.
- Camargo, E.E. y Vilegas, W. 2008. Control de calidad de los extractos polares de *Turnera diffusa* Willd. Schult, Turneraceae. Scielo. 15: 213-222.
- Carrillo, F.J.A., Montoya, R.T., García, E.R.S., Cruz, O.J.E., Márquez, Z.I. y Sañudo, B.A.J. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum lycopersici* Snyder Y Hansen, en Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(2):123- 127.

- Celis, A., Mendoza, C, Pachón, M, Cardonal, J., Delgado, W. y Cuca, L.E. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la Familia Piperaceae. *Agronomía Colombiana*. 26(1):97-106.
- Cooke, D.E.L., Young, V., Birch, P.R.J., Toth, R., Gourlay, F., Day, J.P., Carnegie, S.F. y Duncan, J.M, 2003. Phenotypic and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Scotland (1995-97). *Plantpathology*. 52:181-192.
- Cruz, C.V. 1993. Estudio químico de los vegetales con acción contra hongos e insectos. Memoria de XX congreso Nacional de Fitopatología, Zacatecas, Zacatecas, México. 66 p.
- Cruz-Alcalá, A., Zamora C. M., Cova S. R. 2000. Identificación de hongos del suelo que causan pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el sureste del estado de México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6(1): 25-32.
- De la Cruz, M. R. 2003. Efecto inhibitorio de 16 extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae* y *Rhizoctonia solani* en medio de cultivo PDA. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila México. 82 p.
- Domínguez, X. A., Gómez, E., Villareal, A.P. y Rombold N.A. 1970. Physical data on the essential oils of five compositae plants. *Revista de Plantas Medicinales*. 19: 52-54.

- Domínguez, X.A. 1978. Métodos de Investigación Fitoquímica. Ed. México. 204 pp.
- FAO. 2002. Elección de especies foráneas para plantación. Cuadernos de Fomento Forestal N. 13. Roma, Italia. 375 p.
- Fuentes, R.A.S. 1997. Evaluación del análisis dimensional para estimar la biomasa forrajera y utilización de Damiana (*Turnera diffusa* Wild) por bovinos en Baja California Sur, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila México. 107 p.
- Gamboa, A.R., Hernández, C.F.D., Guerrero, R.E. y Sánchez, A.A. 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora infestans* Mont (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de Hojasen (*Florenxia cernua* D.C) Mejorana (*Origanum majorana* L.) y Trompetilla (*Bouvardia terniflora* Ca.). Revista Mexicana de Fitopatología. 21(1):13-18.
- Garcés, E. G., Amézquita, M. O., Bautista, G.R. y Valencia H. 2001. *Fusarium oxysporum*, el hongo que nos falta conocer. Acta biológica Colombiana. 6: 93-98.
- Garza, L.J.G., López, C.G y González, R.V. 1996. Evaluación in vitro de la resina de la Gobernadora (*Larrea tridentata*) contra *Rhizoctonia solani*; patógeno de papa. Informe de investigación del Campo Experimental Saltillo INIFAP-SAGARPA 25 p.

- Gonzales, M.H. 1968. "Ecología y Distribución de la Gobernadora". Sumario de la conferencia sobre la Gobernadora (*Larrea tridentata*). Sul Ross State College, Alpine Texas. 9 p.
- Haglund, W. A y Kraft, J.M. 2001. *Fusarium* wilt. Compendium of pea diseases and pests. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. (14)16-84.
- Hernández, C.F.D., Castillo, R.F., Gallegos, M.G., Rodríguez, H.R y Aguilar, N.C. 2011. Plant Extracts from Mexican Native Species; An Alternative for Control Of Plant Pathogens. In; RaumjitNokkoul. Organic Farming. Ed. Intech. Croatia. 139-156 pp.
- Hernández, L.A.N., Bautista, B.S. y Velázquez, V.M.G. 2007. Prospectiva de Extractos vegetales para controlar Postcoscha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana. 30:119-123.
- Hossein, S. A y Maldonado, R. 1982. Potencial de la flora de zonas aridas. Ciencia y Tecnologia. 47:98-109.
- Jaimes, S.Y.Y., Moreno, V.C.A. y Cortes, P.A. 2009. Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma*. Acta biol. Colomb. 14(3):111-120.
- Juárez, G.A., Meseguer, P.J., Aranda, S.R., Cavazos, S.M, y Torres, W.N. 2010. Desarrollo y validación de métodos analíticos para estandarización de fitofármacos con *Turnera difusa* (Damiana). Redalyc. 8(4):397-404.

- Leroux, P. 2003. Mode of action of agrochemical towards Plant pathogens. *Comptes Rendus Biologies*. 326:9-21.
- Lira-Saldivar, R.H., Hernández-Suarez, M., Chavez-Betancurt, C., Hernández-Carrillo, F.D. y Cuellar-Villareal, E. 2007. Bioplaguísidas y Control Biológico, CIQA- Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Serna Impresos, Monterrey, México. pp. 13-29 .
- López, B.A., López, B.S.R., Vázquez, B.M.E., Rodríguez, H.S.A., Mendoza, E.M. y Padrón, C.E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. F. sp. *lycopersici* (SACC.) Snyder y Hans, *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Verticillium dahliae* Kleb., mediante extractos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 23:183-190.
- Lugo y Sanabria, Z., Sanabria, N.H. 2001. Características culturales y patogénicas en aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, procedentes de plantaciones comerciales de jitomate. *Agronomía Tropicana* 51(4):519-530.
- Marcos, C.F. 1996. Evaluación de extractos vegetales para el control de “La pudrición de la corona y raíz del Tomate” (*Lycopersicon esculentum* Mill) causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis lycopersici*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 86 p.
- Mihuta-Grimm, L.W.A., Rowe, R.C. 1990. *Fusarium* crown and root of tomato in greenhouse rock wool systems: source of inoculum and Disease management with benomyl. *Plant Disease*, 74 (12): 996-1002.



- Montejo, J.F.E., Cruz, C.L., Pazos, D.G y Siciliano, L.S. 2009. Efecto hipolipidemico de Damiana (*Turnera diffusa*). Tesis de Maestría. Centro de investigación en Biotecnología Aplicada, IPN. Tlaxcala, Tlaxcala. 83 p.
- Montes, B.R. 1996. Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 14(1):9-14.
- Montes, B.R., Cruz, C.V., Martínez, M.G., Sandoval., G.G., García, L.R., Zilch, D.S., Bravo, L.L., Bermúdez, T.L. y Flores, M.H.E. 2000. Propiedades anti fúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18(2) 125-131.
- Navarro, N y Park, W.L. 1999. *Rhizobium leguminosarum* como organismo biocontroladores de la interacción hospedero-patógeno: clavel (*Dianthus caryophyllus*) *Fusarium oxysporum* fsp. *dianthi*. *Revista Colombiana de Química*. 28: 2-6.
- Nelson, P.E., Toussound, T.A y Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* Species. An illustrated manual For identification. The Pennsylvania University Press. University Park and London. pp 145-153.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del Jitomate. 1 era. Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 793 p.
- Ohr, H.D., Sims, J., Grech, N.M., Becker, J.O y Mejr, M. 1996. Methyl iodide, an ozone-safe alternative to methyl bromide as a soil fumigant. *Plant Disease*. 80(7):731-735.

- Pérez, H.M.E. 2010. Actividad Anti Fúngica *in vitro* de Extractos de Plantas del Sureste de Coahuila en Diferentes Solventes contra *Rhizoctonia solani* Kuhn. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México. 87 p.
- Piacentea, S., Camargob, E.E.S., Zampepelia, A y Graciosoc, J.S. 2002. Flavonoids and Arbutin from *Turnera diffusa*. Z. Naturforsch. 57:983-985.
- Ploetz, R. Haynes, J.L. 2000. First report of Race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in South easte in Florida Plant Disease 84(2):199.
- Pulgar, V. J. 1955. El Eucalipto. Ministerio de agricultura de Colombia. Tomo 1. Publicación N. 4. Bogotá, Colombia. 188p.
- Ristaino, J.B. y Thomas, W. 1997. Agriculture bromide and the ozone hole: can we fill the gaps. Plantdisease. 81(9):964-977.
- Rodríguez, A.T., Morales, D. y Ramírez, M.A. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos. Redalyc. 21(2):79- 82.
- Rodríguez, D., Montilla, J.O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en jitomate con extracto de *Citrus paradisi*. Manejo Integrado de Plagas 63:46-50.
- Romero, C.S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Ed. Universidad Autónoma de Chapingo. 347 p.
- Roncero, M. I. G., Pietro, A. D., Ruiz, M. C. R., Huertas, M. D. G., García, F. I. M., Méglecz, E., Jiménez, A., Caracuel, Z., Sancho, R. Z., Hera, C., Gómez, E.

- G., Rubio, M. R., González, C. I y Páez, M.J. 2000. Papel de enzimas líticas de la pared celular en la patogenicidad de *Fusarium oxysporum*. Revista Iberoamericana. Córdoba España. 17:43-53
- Rzedowski, J y Calderón, G. R. 2002. Verbenaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 100. Instituto de Ecología, A. C. Centro regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán. 145 p.
- Salazar, H.F.J., García, E.R., y Tlapal, B.B. 1990. Efecto de la incorporación de residuos secos de la planta de Gobernadora (*Larrea tridentata*) y Epazote (*Chenopodium ambrosioides*) en suelos infectados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. Revista Mexicana de Fitopatología. 9(2): 74-76.
- Tejada, S.M.A. 1993. La Gobernadora (*Larrea tridentata* Cav). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 100 p.
- Tequida-Meneses, M., Rocha, M. C., Rosas, E. C., Sandoval, S. L y Maldonado, C. C. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. Revista Iberoamericana. Hermosillo, Sonora, México. 19: 84-83
- Terry, E., Leyva, A., Ruiz, J y Díaz, M. M. 2007. Manejo de Bioproductos para la producción ecológica de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Revista de Cultivos Tropicales. La Habana, Cuba. 28 (3): 23-27.

- Treviño-Cueto, B. 2006. Obtención de ácido galico y tanasa a partir de Gobernadora (*Larrea tridentata* Cov.). Revista Mexicana de Fitopatología. 8: 35-41.
- Valenzuela-Ureta, J.G., Lawn, D.A., Heisey, R.F y Zamudio, G.V. 1996. First report of Fusarium wilt Race 3, caused by *fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, of Tomato in México, Plant Disease. 80:105.
- Wayne, L.W.2004.*Fusarium* wilt Race, 3 on Tomato. (Consulta en marzo 2008). Boletín Técnico ROGERS, Disponible en internet: [http://www.rogersadventage.com/pdf/tm\\_bulletin.pdf](http://www.rogersadventage.com/pdf/tm_bulletin.pdf)
- Zapata, R., Sanabria, M.E. y Rodríguez, D. 2003. Reducción del desarrollo de hongos Fitopatógenos con extracto de *Carbón lefetaria* (*Cereus deficiens* Otto & Diert). Interciencia. 28:302-306.

## **APÉNDICE**

## APENDICE

**Cuadro 1.** Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por el extracto de gobernadora (*Larrea tridentata*).

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	de Cuadrados medios	F - Valor	Pr > F
Tratamientos	6	21238.13670	3539.68945	13281.9	<.0001
Error	21	5.59660	0.26650		
Total	27	21243.73330			

Coefficiente de variación: 12.8 %

**Cuadro 2.** Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por efecto de extractos de Eucalipto (*Eucaliptus* spp.) con etanol y método de extracción.

Fuente	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Método	2	922.452144	461.226072	92.16	<.0001
Concentración	5	9179.40136	1835.88027	366.85	<.0001
Método*concentración	10	1283.27402	128.327402	25.64	<.0001
Error	51	255.22499	5.00441		
Total correcto	71	11671.5653			

**Cuadro 3.** Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* por efecto de extractos de Damiana (*Turnera diffusa*), solvente y método de extracción.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Repeticiones	3	4.63	1.54	0.55	0.6518
Solvente	1	81.89	81.89	28.99	<.0001
Método	2	215.80	107.90	38.2	<.0001
Concentración	5	186.93	37.39	13.24	<.0001
Solvente*Método	2	539.82	269.91	95.56	<.0001
Solvente*Método*Concentración	10	316.78	31.68	11.22	<.0001
Método*Concentración	10	162.05	16.21	5.74	<.0001
Solvente*Concentración	5	60.31	12.06	4.27	0.0014
Error	105	296.57	2.82		
Total correcto	143	1864.78			