

Actividad antifúngica del extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate.

GABRIELA UBALDO VÁZQUEZ

T E S I S

**Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Junio 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

Actividad antifúngica del extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate

TESIS

POR:

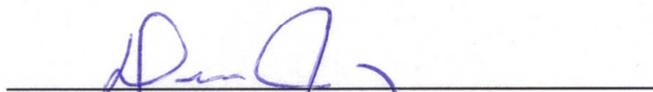
GABRIELA UBALDO VÁZQUEZ

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**

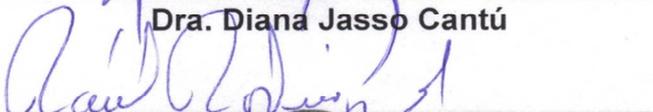
COMITÉ PARTICULAR:

Asesor principal:



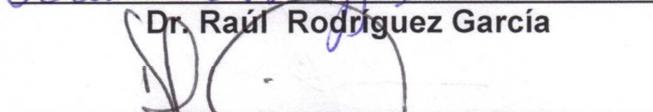
Dra. Diana Jasso Cantú

Asesor:



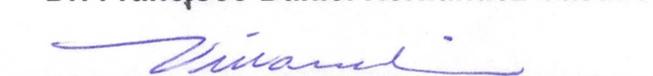
Dr. Raúl Rodríguez García

Asesor:



Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor:



Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla



Dr. Fernando Ruíz Zárate
Subdirector de Posgrado

Saltillo, Coahuila, México, Junio 2014

DEDICATORIA

A **Jehová** por darme “vida y aliento” (Hechos 17:25) hasta el día de hoy. Porque como un “Padre amoroso me has acogido” (Salmos 27:10) brindándome día a día “gozo y felicidad” incluso en momentos difíciles (Salmo 34:8) por eso y mucho más “Digno eres tú, Jehová, nuestro Dios mismo, de recibir la gloria y la honra y el poder, porque tú creaste todas las cosas, y a causa de tu voluntad existieron y fueron creadas” (Revelación 4:11).

A mí querida madre **Minerva Vázquez Roque**, por tu amor incondicional y abnegación para cuidarme desde la infancia, nunca podré pagar todo lo que me has dado para ser feliz. Ahora que tengo el maravilloso privilegio de ser madre pude comprender lo que sentiste cuanto me tuviste, y valoro más todo el amor y el esfuerzo que hiciste, para convertirme en quien soy ahora. Le doy gracias a Jehová por bendecirme con tu presencia y lo único que deseo es poder contribuir a tu felicidad como dice Proverbios 23:24, 25: “El padre de un justo sin falta estará gozoso; el que llega a ser padre de un sabio también se regocijará en él. Tu padre y tu madre se regocijarán, y la que te dio a luz estará gozosa.” TE AMO

A mis queridas hermanas **Lizbeth Ubaldo Vázquez y Anahí Rangel Vázquez**, por ser mis mejores amigas, y a pesar de que hemos pasado tiempos difíciles siempre hemos sabido reír de verdad. Se cumplen en ustedes las palabras de Proverbios 17:17 “Un compañero verdadero ama en todo tiempo, y es un hermano nacido cuando hay angustia”. Mi amor por ustedes es grande y sin condición. No hay mayor deleite que compartir mi vida a sus lado.

A ti querido esposo **Yorfe Pérez López**, por acompañarme por los distintos caminos del amor, por dejarme saborearlos a tu lado, por dejarme hacer locuras por el grandioso hecho de estar enamorada. Eres mi inspiración y la bella razón por la cual deseo siempre vivir contigo y con la ayuda de Jehová así será porque “si alguien pudiera subyugar a uno solo, dos juntos podrían mantenerse firmes contra él. Y una cuerda triple no puede ser rota en dos pronto” (Eclesiastés 4:12).

A mi amado hijo **Caleb Pérez Ubaldo**, porque contigo percibí que solo Jehová en su infinita sabiduría es el artífice del milagro de la vida como bien lo menciona Salmo 139:13,14 “Me tuviste cubierto en resguardo en el vientre de mi madre. Te elogiaré porque de manera que inspira temor estoy maravillosamente hecho. Tus obras son maravillosas”. Tú “eres una herencia de parte de Jehová” y “el fruto del vientre es un galardón” (Salmo 127:3.). Desde que llegaste a nuestras vidas, todos nuestros días se llenaron de luz y color. Saber que eres una parte muy especial de mí, ha hecho que le encuentre un nuevo sentido a mi existir. Te amamos incondicionalmente.

AGRADECIMIENTOS

A **Jehová** porque todo el reconocimiento es para ti. Ya que en tu infinita bondad me has ayudado a potenciar mis capacidades y habilidades para poder culminar con este trabajo. Como bien lo menciona Lucas 11:13 “Por lo tanto, si ustedes, aunque son inicuos, saben dar buenos regalos a sus hijos, ¡con cuánta más razón dará el Padre en el cielo espíritu santo a los que le piden!”.

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que directa o indirectamente con su ayuda han colaborado a lograr la meta que me tracé en mi vida y la cual no la hubiera podido alcanzar sin su ayuda.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** (número de becario: 437422) por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo.

En especial a la **Dra. Diana Jasso de Rodríguez Cantú** y al **Dr. Raúl Rodríguez García**, por la oportunidad que me brindaron al trabajar en este proyecto, por su atención incondicional, por la confianza depositada en mi persona, por su dedicación y empeño en todo lo que realizan siendo para mí un ejemplo a seguir. Así como por su valiosa amistad, para ustedes mi más Sincero y Profundo Agradecimiento.

Al **Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**, por sus opiniones, aportaciones, consejos y contribución en todo el trayecto de la presente investigación.

Al **Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla**, por sus acertados consejos para la estructuración del proyecto de investigación y su apoyo en la colecta e identificación de *Flourensia cernua* DC.

Con mucho aprecio y cariño para **MC. Alma Leticia Salas Gómez**, por acompañarme en esta aventura, pasé muy buenos momentos a tu lado y se cumplen en ti las palabras de Proverbios 18:24: “Existen compañeros dispuestos a hacerse pedazos, pero existe un amigo más apegado que un hermano”. Gracias por todo el apoyo brindado y por compartir a mi lado esta experiencia tan maravillosa que fue mi embarazo.

En especial a la **T.A. María Guadalupe Moreno Esquivel**, por todo el apoyo brindado en la realización de esta investigación, siempre fuiste una aliada compañera con quien uno podía contar incondicionalmente. Gracias Lupita por tus conocimientos brindados a esta servidora.

Con profundo respeto, admiración, a **T.A. María Guadalupe Moreno Esquivel, MC. Alma Leticia Salas Gómez, Ing. Francisca Anakaren Trejo Gonzalez, T.A Olga Leticia Solís Hernández, T.A María Leticia Rodríguez González, T.A Edith E. Chaires Colunga, C. Juan José Valenzuela Cabrera, C. José Luis Treviño Torres y C. Apolinar Rangel Garibaldi**, por todo su apoyo brindado a esta servidora, porque fueron parte fundamental para que este trabajo se realizara desde la preparación de las soluciones del extracto, establecimiento y manejo del experimento en el invernadero, así como para las toma de datos en la cosecha. No encuentro palabras para expresarles mi más sincero agradecimiento.

Al **Dr. Rubén López Cervantes**, por sus asesorías para aplicar los conocimientos transmitidos en la fertilización y manejo del cultivo.

Al **MC. Félix de Jesús Sánchez Pérez**, por su conocimiento transmitido para utilizar el Language R y asesorías para realizar los análisis estadísticos de la presente investigación.

Al **MC. Alfredo Sánchez López**, por facilitarnos las plántulas de tomate y los consejos técnicos para efectuar un buen manejo en el cultivo.

A las **T.A. Silvia Guerrero Martínez** y **T.A. María del Socorro Mirales**, por el apoyo para realizar los análisis de suelo.

A mis compañeros de generación porque a su lado no hubo momentos para sentirme triste o solo, porque siempre tuvieron el consejo, la chispa, el chiste, y el ingenio perfecto para hacer sentir bien a cualquiera, por el aprendizaje que obtuve en la convivencia diaria con cada uno de ustedes, **MC. Alma Leticia Salas Gómez**, **MC. Marco Antonio Reynolds Chávez**, **Ing. Rafael Loyo Melchor** y **MC. Ema Laura García Enciso**.

COMPENDIO

Actividad antifúngica del extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate.

Por

GABRIELA UBALDO VÁZQUEZ

**MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Junio 2014

Dra. Diana Jasso Cantú – Asesor Principal –

Palabras clave: *Flourensia cernua*, extracto etanólico, control, antifúngico, *Fusarium oxysporum*, *Solanum lycopersicum* L.

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más consumidas en el mundo y la de mayor valor económico. Entre las enfermedades más importantes de este cultivo se encuentra la marchitez por *Fusarium oxysporum*, siendo una de las enfermedades más dañinas y prevalentes en el cultivo, provocando una disminución del 60 % en el rendimiento y afectando severamente la calidad del fruto. El uso continuo e indiscriminado de los productos sintéticos destinados a controlar este tipo de enfermedad ha causado muertes por envenenamiento, enfermedades a corto y largo plazo, y daño al medio ambiente. Además, los organismos fitopatógenos

tienden a desarrollar resistencia a la aplicación de agroquímicos debido a la presión de selección ocasionada por el elevado número de concentraciones y aplicaciones. Por ello se requieren más investigaciones sobre la utilización de productos bioactivos para el control de *Fusarium oxysporum*.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la efectividad biológica *in vivo* de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) en el cultivo de tomate. El extracto etanólico de *F. cernua* (EFC) se preparó a partir de las hojas de las plantas colectadas en las zonas semiáridas del noreste de Coahuila, México. Las macetas de plástico se prepararon con una mezcla de perlita, peet moos y tierra esterilizada (33.33% vol., cada uno). El experimento se estableció bajo condiciones de invernadero durante el ciclo primavera-verano del 2013. Como material vegetativo se emplearon plántulas de tomate variedad Saladette P-083-SVA de ciclo determinado las cuales fueron inoculadas por inmersión de raíces en una suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* a una concentración $1.7 \cdot 10^6$ esporas ml^{-1} (excepto el testigo absoluto). A las plántulas se les aplicaron distintas concentraciones del extracto etanólico de *Flourensia cernua*. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y 10 repeticiones (una planta por cada repetición), quedando de la siguiente manera: T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. La duración del experimento fue de 100 días después del trasplante (DDT). Las variables evaluadas fueron: incidencia y severidad de la enfermedad, altura de la planta, diámetro de tallo, peso seco de raíz, peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos, número de hojas, nudos y entrenudos, número de frutos, peso fresco de frutos, diámetro ecuatorial y polar del fruto, firmeza, pH, sólidos solubles totales y vitamina C. Los resultados obtenidos se analizaron con el paquete estadístico del programa Language R, la comparación de medias de tratamientos se llevó a cabo por la prueba de diferencia mínima significativa (DMS), a un nivel de confianza del 0.05.

Respecto a la severidad e incidencia de la enfermedad, los resultados presentaron diferencia significativa ($p < 0.01$) entre los tratamientos, siendo el mejor tratamiento la concentración de 500 ppm del EFC, en comparación con los demás tratamientos, excepto el testigo absoluto (T_1), ya que presentó menor incidencia (50 %) y severidad (1.9) ocasionada por *F. oxysporum*, siguiéndole las concentraciones de 100 y 300 ppm (T_3 y T_4 , respectivamente). Los resultados de peso seco de las raíces mostraron que el testigo absoluto (T_1) y el tratamiento de 500 ppm fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$), y superiores al resto de los tratamientos. En altura de planta y diámetro de tallo, la respuesta de las plantas de tomate en los distintos tratamientos donde se aplicó el EFC, mostró que las concentraciones de 100 ppm (T_3), 300 ppm (T_4) y 500 ppm (T_5) de EFC protegieron a las plantas de tomate contra el ataque de *F. oxysporum*, tomando en cuenta que los valores promedios de todas las fechas evaluadas resultaron más altos para los tratamientos mencionados anteriormente. Respecto al peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos, el análisis de varianza mostró significancia para estas variables ($p < 0.01$) donde la media superior la obtuvo el testigo absoluto siguiéndole la concentración de 500 ppm. El testigo inoculado (T_2) y la concentración de 2,000 ppm (T_8) obtuvieron los valores medios más bajos para ambas variables. Los resultados del análisis de varianza para las variables peso fresco del fruto, diámetro polar y ecuatorial fueron no significativos. Los resultados de firmeza, potencial hidrógeno y sólidos solubles totales mostraron que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. El contenido de vitamina C mostró diferencia significativa ($p < 0.01$), donde los tratamientos de 100, 300 y 500 ppm (concentraciones bajas) son estadísticamente igual al testigo absoluto (T_1), según la prueba de comparación de medias (DMS).

De los resultados anteriores se concluye que las concentraciones bajas de EFC ($T_3 = 100$ ppm, $T_4 = 300$ ppm y $T_5 = 500$ ppm), promueven en las plantas de tomate una mayor protección contra el ataque de *F. oxysporum*, en relación con las concentraciones altas del EFC ($T_6 = 1,000$ ppm, $T_7 = 1,500$ ppm y

T₈=2,000 ppm). Además se concluye, que el extracto de *Flourensia cernua* controló el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate a bajas concentraciones, donde la concentración de 500 ppm del extracto etanólico de *F. cernua* fue la mejor para controlar la incidencia y severidad de la enfermedad ocasionada por *F. oxysporum*. Los resultados de este estudio contribuyen a la posibilidad de un nuevo producto natural, para el control de enfermedades ocasionadas por *F. oxysporum* y de esta forma disminuir el uso de productos sintéticos y la contaminación ambiental.

ABSTRACT

Antifungal activity of *Flourensia cernua* DC ethanolic extract for *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* control in tomato crops.

BY

GABRIELA UBALDO VÁZQUEZ

**MASTER IN SCIENCE IN
ENGINEERING PRODUCTION SYSTEMS**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México, June 2014

Dra. Diana Jasso Cantú – Main Advisor –

Key words: *Flourensia cernua*, ethanolic extract, control, antifungal, *Fusarium oxysporum*, *Solanum lycopersicum* L.

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most widely consumed vegetables in the world and the one with highest economic value. However among the most important diseases of this crop is wilt caused by *Fusarium oxysporum*, because is one of the most damaging and prevalent diseases over this crop, which reaches a decrease of 60% of crop yield and severely affects the fruit quality. The synthetic products applied to control this type of disease have been used with continuous and indiscriminate regulation that it provoke poisoning deaths, short and long term diseases, and environmental problems. Furthermore, the phytopathogenic organisms tend to

develop resistance to agrochemicals for the selection pressure caused by excessive dose and number of applications. Therefore, further investigations of bioactive products use for *Fusarium oxysporum* control are required.

The aim of this work was to study *in vivo* biological effectiveness of different concentrations of *Flourensia cernua* DC ethanolic extract to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) in tomato crops. The *F. cernua* ethanolic extract (FCE) was prepared from plants leaves collected in semi-arid areas of northeastern Coahuila, Mexico. Plastic pots were prepared with a mixture of perlite, sterile land peat moos (33.33% vol., each). The experiment was established under greenhouse conditions during the spring/summer 2013. The vegetative material was tomato seedlings Saladette P-083-SVA variety. The roots inoculation was applied by immersion in a spore suspension of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a concentration of 1.7×10^6 spores ml^{-1} (except the absolute control). Following by the addition of different concentration of *F. cernua* ethanolic extract. The experiment was established in a completely randomized design with six treatments and 10 replications (one plant per repetition), as follows: T₁: Absolute control; T₂: Witness inoculated; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm and T₈: 2,000 ppm of FCE. The experiment length was 100 days after transplantation (DDT). The evaluated variables were: incidence and disease severity, plant height, stem diameter, root dry weight, fresh weight and dry total plant, leaves and stems, number of leaves, nodes and internodes, number of fruits, fresh fruit weight, polar and equatorial diameter of fruit, firmness, pH, total soluble solids and vitamin C. The results were analyzed by the statistical package R Language Program, and the means comparison by the least significant difference (LSD), at a confidence level of 0.05.

Regarding the severity and incidence, the results showed a significant difference ($p < 0.01$) between treatments, being the highest treatment the concentration of 500 ppm of the FCE, as compared to other treatments, and had lower incidence (50%) and severity (1.9) caused by *Fol*, followed by the

concentrations of 100 and 300 ppm. The results of the dry weight of roots showed that the absolute control (T₁) and 500 ppm treatment were statistically similar ($p < 0.05$), and higher than the other treatments. For plant height and stem diameter, the response of tomato plants in the different treatments was applied where the EFC application over tomato plants established that concentrations of 100 ppm (T₃), 300 ppm (T₄) and 500 ppm (T₅) protected crop plants against the attack of *Fol*, considering that the average values during the measurements were the highest. Regarding the fresh and dry weight total plant, leaves and stems, the ANOVA showed a significant value of ($p < 0.01$), where the highest mean was the absolute control, followed by the concentration of 500 ppm. However the inoculated control (T₂) and the concentration of 2,000 ppm (T₈) showed the lowest mean values. The analysis of fresh weight variables, polar and equatorial diameter were not significant, and also the firmness, potential hydrogen and soluble solids results showed no significant difference between treatments. The content of vitamin C showed significant difference ($p < 0.01$), where treatments of 100, 300 and 500 ppm (low concentrations) are statistically equal to the absolute control (T₁).

The LSD analysis demonstrater that low concentrations treatments (T₃=100 ppm, T₄=300 ppm and T₅=500 ppm), promoted in tomato plants higher protection against *F. oxysporum* attack compared with the high concentrations of FCE (T₆=1,500 ppm, T₇=1,000 ppm and T₈=2,000 ppm).

The *F. cernua* extract at low concentrations presented control against *F. oxysporum* in tomato crops, wherein the concentration of 500 ppm of the ethanolic extract showed the highest effect to control the incidence and severity caused by *F. oxysporum* in tomato crops. The results of this study contributes the possibility of a new natural product for control diseases, caused by *F. oxysporum* associated with the reduction of use synthetic products and the environment pollution.

ÍNDICE

Sección	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
COMPENDIO	viii
ABSTRACT	xii
ÍNDICE	xv
ÍNDICE DE CUADROS	xx
ÍNDICE DE FIGURAS	xxi
1. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	5
Objetivos específicos	6
Hipótesis	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	7
2.1.1. Importancia	8
2.1.2. Producción de tomate	8
2.1.3. Características botánicas y taxonómicas	9
2.1.4. Principales enfermedades que afectan al tomate	12
2.2. Marchitez causada por <i>Fusarium</i>	13
2.2.1. Importancia	15
2.2.2. Síntomas	15
2.2.3. Control	16
	xv

2.3. Uso indiscriminado de los plaguicidas	17
2.3.1. Efectos perjudiciales al medio ambiente	18
2.3.2. Efecto sobre organismos superiores	19
2.3.3. Efecto sobre los humanos	19
2.3.4. Resistencia a plaguicidas	20
2.3.5. Tendencia de nuevas alternativas	21
2.4. Uso de extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos	21
2.4.1. Importancia de los extractos vegetales	26
2.4.2. Uso de aceites esenciales y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “ <i>In Vitro</i> ”	27
2.4.3. Uso de aceites esenciales, polvos y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “En Invernadero”	36
2.4.4. Uso de aceites esenciales y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “En Campo”	41
2.4.5. Metabolitos secundarios de las plantas con actividad antifúngica	44
2.5. Perspectivas del uso del extracto de <i>Flourensia cernua</i> DC.	46
2.5.1. Ubicación taxonómica	47
2.5.2. Especies del género <i>Flourensia</i>	47
2.5.3. Descripción Botánica	49
2.5.4. Nombres Comunes	49
2.5.5. Distribución geográfica	50
2.5.6. Especies asociadas	51
2.5.7. Usos comunes	51
2.6. Efecto contra microorganismos fitopatógenos	52

2.6.1. Efecto fungicida	52
2.6.2. Efecto bactericida	58
2.6.3. Efecto insecticida	60
2.6.4. Efecto fitotóxico	61
2.6.5. Efecto citotóxico	61
2.6.6. Efecto Antioxidante	62
2.7. Estudios fitoquímicos	63
3. MATERIALES Y MÉTODOS	69
3.1. Colecta y preparación de material biológico	69
3.2. Obtención del extracto y preparación de las soluciones de diferente concentración	70
3.3. Obtención del inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	71
3.4. Establecimiento del experimento	72
3.4.1. Ubicación del experimento	72
3.4.2. Preparación del sustrato	73
3.4.3. Material vegetativo	73
3.4.4. Diseño experimental	74
3.4.5. Inoculación y trasplante	74
3.5. Manejo del cultivo	75
3.5.1. Aplicación del extracto	75
3.5.2. Riego	76
3.5.3. Fertilización	77
3.5.4. Entutorado	78
3.5.5. Poda de tallos y hojas	79

3.5.6. Control de plagas y enfermedades	79
3.6. Variables evaluadas en planta	80
3.6.1. Severidad	81
3.6.2. Incidencia	82
3.6.3. Peso seco de raíces	82
3.6.4. Altura de planta	82
3.6.5. Diámetro de tallo	83
3.7. Variables evaluadas en la planta después de la cosecha	84
3.7.1. Peso fresco total de la planta	84
3.7.2. Peso fresco de hojas	84
3.7.3. Peso fresco de tallos	85
3.7.4. Peso seco total de la planta	85
3.7.5. Peso seco de hojas	85
3.7.6. Peso seco de tallos	85
3.7.7. Número de hojas	86
3.7.8. Número de nudos y entrenudos	86
3.7.9. Número y peso fresco de frutos	86
3.8. Variables evaluadas en el fruto	86
3.8.1. Variables de calidad externa del fruto	86
3.8.1.1 Diámetro ecuatorial	87
3.8.1.2 Diámetro polar	87
3.8.2. Variables de calidad interna del fruto	87
3.8.2.1 Firmeza	87
3.8.2.2 Potencial de hidrógeno	88

3.8.2.3 Contenido de sólidos solubles totales	88
3.8.2.4 Vitamina C	88
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	90
4.1. Rendimiento de resina	90
4.2. Efecto del extracto de <i>Flourensia cernua</i> DC. en la evaluación de las plantas de tomate infectadas con <i>Fusarium oxysporum</i> durante el ciclo del cultivo	90
4.2.1. Severidad e Incidencia	90
4.2.2. Peso seco de raíces	98
4.2.3. Altura de planta	101
4.2.4. Diámetro de tallo	104
4.3. Efecto del extracto de <i>Flourensia cernua</i> DC. en la evaluación de las plantas de tomate infectadas con <i>Fusarium oxysporum</i> durante la cosecha	107
4.3.1. Peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos	107
4.3.2. Número de hojas, nudos y entrenudos	109
4.4. Efecto del extracto de <i>Flourensia cernua</i> DC. en la evaluación de la calidad del fruto de tomate	110
5. CONCLUSIONES	117
6. LITERATURA CITADA	119

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales estados productores de tomate	9
2	Comparación de medias de altura de la planta	102
3	Comparación de medias del diámetro de tallo	105
4	Comparación de medias de las variables de crecimiento evaluadas en plantas de tomate después de la cosecha	108
5	Comparación de medias de las variables evaluadas en la calidad del fruto	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Disposición de la semilla de tomate en el fruto, y sus partes	10
2	Flor de una planta de tomate	11
3	Principales partes del fruto (baya) de tomate	12
4	Distribución de <i>Flourensia cernua</i> DC en la República Mexicana	51
5	Componentes fitoquímicos identificados en <i>Flourensia cernua</i> DC	67
6	Recolección de <i>Flourensia cernua</i> DC	70
7	Preparación de la suspensión de esporas	71
8	Localización del invernadero donde se estableció el experimento de tomate	73
9	Inoculación de plántulas de tomate	75
10	Aplicación del extracto de <i>Flourensia cernua</i>	76
11	Sistema de riego por goteo	77
12	Entutorado en plantas de tomate	78
13	Poda en plantas de tomate	79
14	Monitoreo diario para el control de plagas y enfermedades	80
15	Sintomatología de la enfermedad ocasionada por <i>Fusarium oxysporum</i> (Izquierda T ₅ R ₇ , Derecha T ₂ R ₇)	81
16	Medición de altura en planta de tomate	83
17	Medición de diámetro en el tallo de la planta	84

18	Efecto del extracto etanólico de <i>Flourensia cernua</i> en: A) Incidencia (%) y B) Severidad de la enfermedad en plantas de tomate al final del ciclo del cultivo	92
19	Control del extracto de <i>F. cernua</i> en <i>F. oxysporum</i> inoculado en plantas de tomate	94
20	Medias del peso seco de raíces	99
21	Efecto del extracto etanólico de <i>F. cernua</i> en el control de <i>F. oxysporum</i> en las raíces	100
22	Altura de planta de tomate en el transcurso del ciclo del cultivo	103
23	Diámetro de tallo de la planta de tomate en el transcurso del ciclo del cultivo	106
24	Prueba de comparación múltiple de medias del peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos	109
25	Medias del peso fresco del fruto	111
26	Medias del diámetro polar y ecuatorial del fruto	112
27	Medias del contenido de Vitamina C	116

1. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más difundida en el mundo y la de mayor valor económico, su demanda se incrementa continuamente y con ella la superficie cultivada, producción y comercialización. En México el tomate es considerado como la segunda especie hortícola más importante por la superficie sembrada y como la primera por su valor de producción (Valadez, 1997).

El tomate cultivado está expuesto a plagas y enfermedades, presentando graves problemas de daños causados por hongos. Entre las enfermedades más importantes de este cultivo se encuentra la Marchitez por *Fusarium oxysporum*, es una de las enfermedades más dañinas y prevalentes en el cultivo, que llega a disminuir en un 60 % el rendimiento y afecta severamente la calidad del fruto (Ascencio *et al.*, 2008); además, este hongo causa pudrición radical severa y lesiones necróticas extensivas en la base del tallo, provocando una podredumbre en las raíces secundarias, marchitez y finalmente la muerte de la planta (Hernández *et al.*, 2005). La marchitez puede aparecer en cualquier época, siempre que las condiciones le sean favorables (Do Amaral *et al.*, 2008).

Los productos sintéticos destinados a controlar este tipo de enfermedad han tenido un rol muy marcado en el incremento de la producción agrícola. Sin embargo, el uso continuo e indiscriminado de estas sustancias, no solo han

causado muertes por envenenamiento sino también enfermedades a corto y largo plazo (Palacios y Moreno, 2004), a su vez han afectado al medio ambiente (Torres y Capote, 2004), acumulándose por bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, en el suelo y en el agua (Rivas *et al.*, 2005; Waterhouse *et al.*, 1996). Además, los organismos fitopatógenos tienden a desarrollar resistencia a la aplicación de agroquímicos debido a la presión de selección ocasionada por las altas dosis y número de aplicaciones (Freemark y Boutin, 1995; Bourguet *et al.*, 2000).

Por lo anterior y aunado a ello, el acelerado crecimiento de la población y el intercambio comercial con diversos países del mundo, exigen que la agricultura nacional sea más rentable y eficaz buscando nuevas y mejores alternativas de producción. Se pretende obtener productos de mayor y mejor calidad que sean competentes a nivel internacional, sin que estos procesos de producción afecten a la ecología y a la naturaleza. Una alternativa para controlar los organismos fitopatógenos es el uso de aceites esenciales y extractos de plantas. Esto ha llevado a investigadores de todo el mundo a buscar nuevos compuestos naturales para el control de enfermedades cuya actividad y seguridad ambiental sea adecuada (Wilson *et al.*, 1999; Bautista *et al.*, 2004a; Bautista *et al.*, 2004b; Boyraz y Ozcan, 2006; Hernández *et al.*, 2007; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007; Igbinosa *et al.*, 2009).

Las plantas han sido capaces de protegerse de las plagas por sí mismas antes de que el hombre jugara un rol activo en protegerlas (Wilson *et al.*, 1999).

Se conoce que sintetizan una gran variedad de sustancias de bajo peso molecular conocidas también como metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa. Estos son, normalmente, no-esenciales para el proceso metabólico básico de la planta y entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, esteroides, ácidos grasos, etcétera. Semejante diversidad química es consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano, de insectos y otros animales (Dixon, 2001). Hoy en día se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas (Jacobson, 1989). El proceso para obtener los metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variado, se puede obtener extractos acuosos (Bautista *et al.*, 2002) o polvos (Bautista *et al.*, 2003) o utilizar otros disolventes para obtener diferentes compuestos según su polaridad (About *et al.*, 2002).

Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas son biodegradables e inoocuos, y que en México se encuentra aproximadamente 10 % de las especies de las plantas superiores del mundo y más del 50 % de ellas son endémicas (CONABIO, 2006), resulta conveniente explorar el potencial de empleo de sus extractos vegetales.

Existen antecedentes de numerosos reportes promisorios de la evaluación de diversos extractos vegetales con actividad sobre microorganismos fitopatógenos. En este contexto es el caso del hojaseén (*Flourensia cernua* DC.) especie que se encuentra ampliamente distribuida en el Desierto Chihuahuense

habitando en nueve estados de la República Mexicana y el sureste de Estados Unidos (Korthuis, 1988). Los compuestos de las hojas de hojásén han demostrado *in vitro* efecto fungistático (Saeedi y Maldonado, 1982; Tellez *et al.*, 2001; Gamboa *et al.*, 2003; Cárdenas *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005; Solís *et al.*, 2005; Galván, 2005; Guerrero *et al.*, 2007; Ventura *et al.*, 2006; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2010; Díaz *et al.*, 2013), bactericida (Towers *et al.*, 1975; Aregullin y Rodríguez, 1983; Tellez *et al.*, 2001; Molina *et al.*, 2006; Peralta, 2006; Castillo, 2008; Méndez *et al.* 2012), insecticida (Bowers, 1971; Towers *et al.*, 1975; Tellez *et al.*, 2001; Martínez, 2006), fitotóxico (Mata *et al.*, 2003), citotóxico (Towers *et al.*, 1979; Towers *et al.*, 1980; Mata *et al.*, 2003; Molina *et al.*, 2006; Zavala *et al.*, 2010) y antioxidante (Salazar *et al.*, 2008).

A la fecha, la mayoría de las evaluaciones de extractos vegetales sólo se han realizado en modelos *in vitro*, falta por explorar el efecto de los extractos *in vivo* para determinar su uso contra microorganismos fitopatógenos; así mismo, es necesario determinar la toxicidad de los mismos, para garantizar su inocuidad.

La revisión bibliográfica científica no arroja información sobre la aplicación *in vivo* de los extractos de *Flourensia cernua*. Lo anterior dá pauta para realizar estudios *in vivo* y determinar su efecto sobre distintos tipos de microorganismos fitopatógenos y de esta manera contribuir a generar nuevas alternativas de control, ya que se dispondrá de un producto de origen biodegradable y por su

naturaleza manifestará un mínimo impacto negativo sobre la salud humana y el medio ambiente (Bravo *et al.*, 2000; Barrera y Bautista, 2008). Los bioplaguicidas representan el 3.26 % del mercado mundial de plaguicidas, siendo los insecticidas el grupo más importante. Un informe del Mercado Europeo de Bioplaguicidas (Frost y Sullivan, 2013) revela que la tasa de crecimiento anual es del 10.1 %, con tendencia a aumentar. Se estima que hasta ahora los semioquímicos han alcanzado sólo el 20 % de su penetración potencial en el mercado. El mercado principal de los bioplaguicidas lo constituye la agricultura ecológica, cultivos bajo plástico, parques y jardines. Con una media de crecimiento anual del 30 %, la agricultura ecológica en la Unión Europea constituye uno de los mercados más dinámicos del sector agrícola, apoyada por la legislación comunitaria. La existencia de este mercado en expansión justifica la necesidad de desarrollar nuevos productos mediante la investigación sistemática de plantas, de hongos e incluso de residuos agrícolas.

En base a los antecedentes mencionados los objetivos del presente estudio fueron:

Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

Objetivos específicos

1. Evaluar la actividad antifúngica de seis concentraciones del extracto etanólico de *Flourensia cernua* en tomate, inoculado con *Fusarium oxysporum* mediante la severidad e incidencia de la enfermedad.
2. Evaluar el efecto del control del patógeno por las concentraciones del extracto en variables de crecimiento del tomate.

Hipótesis

El extracto etanólico de *Flourensia cernua* inhibe la infección de las plantas ocasionadas por *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

El tomate *Solanum lycopersicum* Linneo, es una planta nativa de América tropical, cuyo origen se localiza en la región de los andes: Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú (Messiaen *et al.*, 1995; Valadez, 1997), sin embargo Valadez (1997) señala que a nivel mundial México es reconocido como el centro más importante de la domesticación del tomate.

Se considera que a nivel internacional, las hortalizas junto con las frutas ocupan actualmente el segundo lugar de los productos agropecuarios, apenas aventajadas por los cereales. Se estima que tan solo dos hortalizas contribuyen con el 50 % de la producción en el mundo: la papa y el jitomate (Ascencio *et al.*, 2008), lo cual nos indica el enorme valor que este último cultivo representa no solo en el comercio, sino también en el sistema alimentario mundial (Barreiro, 1998).

En México, como en otras partes del mundo, preferimos consumir el jitomate fresco, pero también es utilizado como producto industrializado para elaborar pastas, salsas, purés, jugos, etc., gracias a los avances tecnológicos para su procesamiento y a las modificaciones en los gustos y costumbres de las

nuevas generaciones, lo que exige calidad en cuanto a su distribución y venta en fresco, determinando y condicionando nichos de mercado (Nuez, 2001).

2.1.1. Importancia

En México el tomate o jitomate es considerado la segunda especie hortícola más importante por la superficie sembrada y como la primera por su valor de producción (Valadez, 1997). Además, se encuentra cultivado en climas templados y tropicales de casi toda la República, por ser una planta que tiene un rango muy amplio de adaptación (León y Arosamena, 1980).

La actividad productiva de este cultivo es de relevante importancia para México, ya que genera un alto nivel de divisas para nuestro país, utiliza un elevado número de mano de obra y proporciona una derrama económica considerable por el monto de insumos (León y Arosamena, 1980).

2.1.2. Producción de tomate

Actualmente este cultivo posee una gran importancia económica en todo el mundo. De acuerdo con la FAOSTAT la producción mundial de tomate rojo en 2012 fue más de 138 millones de toneladas, en donde México ocupa el décimo primer lugar. A nivel nacional, el volumen de la producción de tomate rojo en 2012, fue de 2.8 millones de toneladas. Sinaloa es el principal productor a nivel nacional (Cuadro 1) con una producción de 1.03 millones de toneladas que representa el 36.61 %. Baja California y Michoacán son considerados como

los estados que ocupan el segundo y tercer lugar de la producción nacional con 189 y 171 mil toneladas respectivamente (SIAP, 2012).

Cuadro 1 Principales estados productores de tomate

Ubicación	Producción (Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Sinaloa	1,039,367.64	3,070,433.17
Baja california	189,635.96	1,475,892.93
Michoacán	171,038.52	522,691.93
Jalisco	156,660.03	1,152,251.60
Zacatecas	139,131.08	670,055.87
San Luís Potosí	116,136.93	516,340.56
Baja California Sur	106,858.54	720,777.84
Oaxaca	96,744.42	539,247.02
Nayarit	87,304.30	252,041.01
Sonora	82,323.87	353,992.21

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquería (SIAP, 2012)

2.1.3. Características botánicas y taxonómicas

Actualmente se conocen nueve especies del género *Lycopersicum* sus semillas son discoidales o lenticular con dimensiones aproximadas de 5 x 4 x 2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal (Figura 1). El embrión lo forman una yema apical, dos cotiledones, el hipocólito y la radícula. La testa o cubierta seminal es de un tejido duro e

impermeable con un color amarillo-grisáceo, velludas y embebidas en una masa gelatinosa que se encuentra en las cavidades del fruto maduro (Nuez, 2001; Muñoz, 2009).

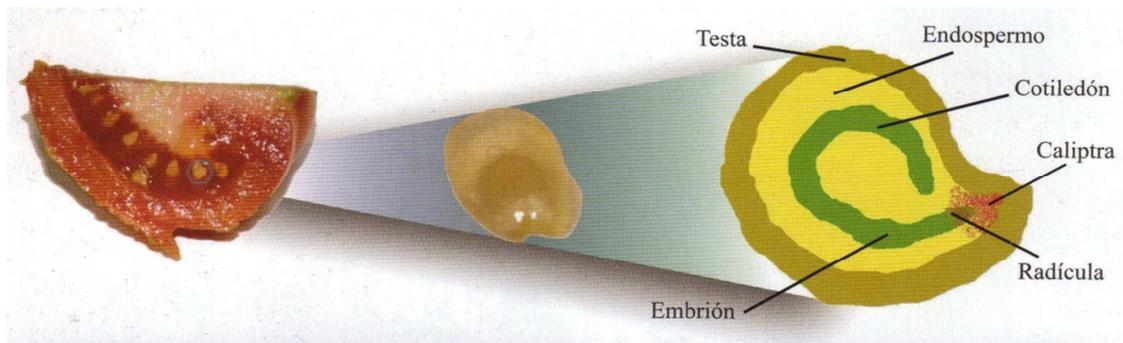


Figura 1. Disposición de la semilla de tomate en el fruto, y sus partes

Fuente: Muñoz (2009)

Es una planta anual y puede ser semiperenne en regiones tropicales. Su sistema radicular es pivotante y robusta, pudiendo llegar hasta 60 cm de profundidad (Valadez, 1997; León y Arosamena, 1980; Muñoz, 2009). Los tallos son el eje sobre el cual se desarrollan las hojas, flores y frutos, el diámetro de la base puede ser de 2 a 4 cm y el porte puede ser de crecimiento determinado (tallos que al llegar a cierto número de ramilletes detienen su crecimiento) e indeterminado (tallos que no detienen su crecimiento). El tallo está cubierto por vellosidades que salen de la epidermis, mismas que expiden un aceite oloroso que al desprenderlo sirve de protección al tallo, estos son cilíndricos en plantas jóvenes y angulosos en plantas maduras, alcanzan alturas de 0.4 a 2.0 m, presentando un crecimiento simpódico (Valadez, 1997; Muñoz, 2009).

Las flores son pequeñas, pedunculadas, de color amarillo y forman corimbos axilares (Figura 2). El cáliz tiene cinco sépalos, la corola tiene cinco pétalos que conforman un tubo pequeño pues está soldada inferiormente, los cinco estambres están soldados en estilo único que a veces sobresalen, el ovario contiene muchos óvulos. La inflorescencia se forma a partir del 6° ó 7° nudo y cada 1 ó 2 hojas se encuentran las flores en plantas de hábito determinado, y en las de hábito indeterminado se forman a partir del 7° ó 10° nudo y cada cuatro hojas (Valadez, 1997; Muñoz, 2009).



Figura 2. Flor de una planta de tomate

Sus hojas son grandes, compuestas, con diferentes tonos de color verde y distintas formas, según la variedad. En las axilas de las hojas se forman las yemas que producen tallos secundarios de importante desarrollo y capacidad productiva (León y Arosamena, 1980).

El fruto de tomate es una baya compuesta por varios lóculos, pudiendo contar desde dos (bilocular) hasta tres o más lóculos (multilocular); los cultivares comerciales pertenecen al tipo multilocular (Figura 3). El color más

común del fruto es el rojo, pero existen amarillos, naranjas y verdes, siendo su diámetro comercial aproximado de 10 cm (Valadez, 1997; Muñoz, 2009).

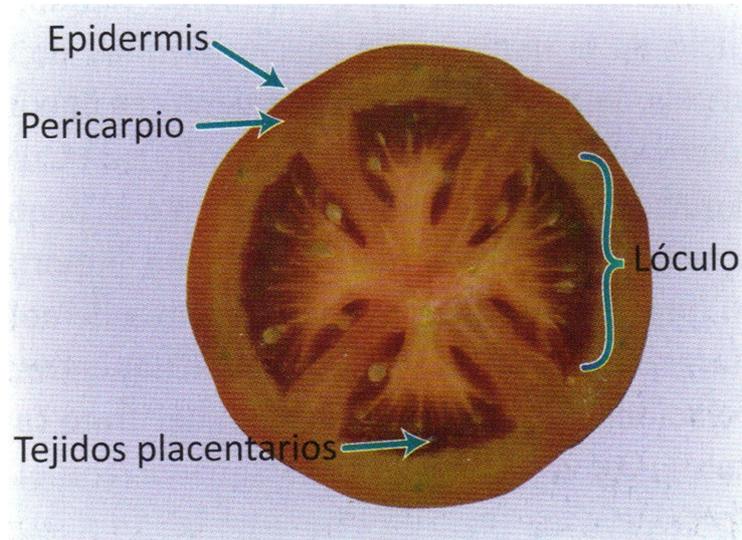


Figura 3. Principales partes del fruto (baya) de tomate

2.1.4. Principales enfermedades que afectan al tomate

Un número elevado de enfermedades causadas por bacterias, hongos y virus atacan este cultivo desde la siembra hasta la cosecha. Existen cerca de 200 enfermedades del tomate de diversas causas y etiologías, para cuyo control se utilizan cultivares resistentes, así como medidas de exclusión, erradicación y protección en el contexto de un programa de control integrado. Algunas de estas enfermedades, dependiendo de las condiciones ambientales y de los cuidados pueden causar pérdidas hasta del 100 % (Vallejo, 1999).

Entre las enfermedades causadas por bacterias se encuentran: Cáncer bacteriano, Mancha bacteriana, Mancha negra del tomate (*Pseudomonas syringae* p.v. tomato), Marchitez bacteriana, Chancro bacteriano del tomate

(*Clavibacter michiganensis*), Roña o sarna bacteriana (*Xanthomonas campestris* p.v. vesicatoria) y Podredumbres blandas (*Erwinia carotovora* sub sp. *carotovora*) (The American Phytopathological Society, 2001).

Dentro de las enfermedades virales se tiene al Virus del bronceado del tomate (TSWV) o Marchitez manchada, Virus del mosaico del pepino (CMV), Virus Y de la patata (PVY), Virus del rizado amarillo del tomate (TYLV), Virus del mosaico del tomate, Virus del enanismo ramificado del tomate (TBSV) y Virus del mosaico del tabaco (TMV) (The American Phytopathological Society, 2001).

La mayoría de las enfermedades en el cultivo del tomate son causadas por hongos. Las enfermedades fungosas son: Antracnosis, Cáncer del tallo/*Alternariosis*, Cenicilla, Mancha gris de la hoja, Moho gris, Moho blanco, Tizón temprano, Tizón tardío, *Verticilium* y la marchitez causada por *Fusarium*.

2.2. Marchitez causada por *Fusarium*

La Marchitez causada por *Fusarium* o Fusariosis vascular del tomate, fue descrita por primera vez en Europa en 1895 en Guernsey y en la Isla de Wight. Es una micosis cuyo agente causal es *Fusarium oxysporum* Schlechtend: Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans (Smith *et al.*, 1988). El género *Fusarium* pertenece a la clase *Deuteromycetes* u hongos imperfectos. Se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza y abundan principalmente en el suelo, materia vegetal y alimentos en descomposición (Pelczar *et al.*, 1990).

Esta enfermedad ha sido señalada en África, Asia, Norte y Suramérica, Australia, Europa, Indias Occidentales y América, en zonas donde el tomate se cultiva desde hace muchos años (Rodríguez *et al.*, 2001). Puede ocasionar pérdidas considerables, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables (Agrios, 2007). En México se presentan anualmente pérdidas económicas por cientos de millones de pesos a causa de este hongo fitopatógeno ya que limita la explotación de cultivos en regiones completas. Durante el año 2002, en el estado de Sinaloa, el 85% de los campos cultivados con tomate estuvieron infestados con *F. oxysporum* (Apodaca *et al.*, 2002). Además, se dejaron de establecer 13 mil hectáreas de tomate entre el año 2001 al 2003 debido en gran parte al ataque de *F. oxysporum* (Carrillo *et al.*, 2003).

Este patógeno entra a la planta a través de las raíces, ya sea por penetración en la punta de la raíz o por las de heridas naturales, por ejemplo a través de los tejidos de la corteza de la raíz por la formación de raíces laterales (Mes *et al.*, 2000), donde el micelio del hongo se propaga intercelularmente a través de ésta (Agrios, 2007). Cuando se encuentra en los vasos, el micelio se ramifica y produce microconidios en su interior, que son desprendidos y llevados hacia la parte superior de la planta por el flujo ascendente del agua del xilema. Los microconidios germinan en el punto donde cesa su movimiento ascendente y el micelio penetra la pared superior del vaso, y ahí, el hongo produce más microconidios. El hongo también avanza a los vasos adyacentes de la misma manera. El hongo invade entonces en gran escala a los tejidos

parenquimatosos de la planta, llega a la superficie de los tejidos muertos y ahí esporula profusamente. En ocasiones el hongo llega hasta los frutos de las plantas donde penetra y contamina las semillas. Esto sucede principalmente cuando la humedad del suelo es alta y la temperatura relativamente baja, condiciones que permiten a las plantas producir buenas cosechas, aunque sean infectadas por el hongo. Sin embargo, es frecuente que estos frutos infectados se pudran y desprendan (Agrios, 2007).

2.2.1. Importancia

Esta enfermedad comúnmente conocida como “amarillo” o “marchitez por *Fusarium*” provoca serios daños en todas las áreas donde se cultiva el tomate, afectando seriamente la producción (León y Arosamena, 1980).

Diferentes especies de *Fusarium*, a nivel mundial, causan varias enfermedades, tales como; marchitez vascular, pudrición de semillas y plántulas (ahogamiento), pudrición de raíz, de tallos inferiores, de coronas, de bulbos, de tubérculos, etc. (Agrios, 2007).

2.2.2. Síntomas

Los primeros síntomas que causa este hongo fitopatógeno en las plantas se manifiestan por una ligera aclaración de las nervaduras de los folíolos jóvenes más externos, después de lo cual ocurre la epinastía de las hojas senescentes ocasionada por el debilitamiento de los pecíolos. Es más frecuente que en las plantas adultas ocurra epinastía foliar y una previa aclaración de las

nervaduras de sus hojas antes de que se produzca el achaparramiento; también se observa un amarillamiento de las hojas inferiores.

Además es común ver la formación ocasional de raíces adventicias, marchitamiento de los tallos y hojas jóvenes, defoliación, necrosis marginal de sus hojas persistentes y finalmente su muerte. Con frecuencia, estos síntomas aparecen sólo en uno de los costados del tallo y avanzan hasta la parte superior de la planta hasta que destruyen el follaje y ocasionalmente la muerte del tallo (Agrios, 2007).

En los cultivos aparece en focos que se extienden gradualmente, causando la muerte prematura de las plantas afectadas (Smith *et al.*, 1988). Además de los síntomas descritos, pueden aparecer otros como, epinastia de las hojas (curvatura y flacidez sin perder el color verde), formación de botones y raíces adventicias en el tallo (Rodríguez *et al.*, 2001). Así mismo, pueden desarrollarse chancros en el tallo, generalmente desde la línea del suelo hasta unos 10-30 cm por encima de éste (Santos *et al.*, 2004). Cuando las plantas logran sobrevivir, alcanzan escaso desarrollo, sus frutos son pequeños y de mala calidad (Alpi y Tognoni, 1991).

2.2.3. Control

Para la prevención de esta enfermedad, existen muchas recomendaciones dentro de las cuales se encuentran: tratar la semilla con agua caliente por 20 minutos a 50 °C, a esta temperatura se elimina al patógeno o usar semilla sana y certificada, una fertilización adecuada de potasio y poco

nitrógeno para fortalecer paredes celulares, dar riegos ligeros y frecuentes para tener una buena humedad constante en el suelo, sin llegar al exceso, rotación de cultivos, esterilización de suelos o sustratos a altas temperaturas o químicos altamente tóxicos en invernadero y tratar las plántulas con fungicidas (Mendoza y Pinto, 1983; Grainge y Ahmed, 1988; Mendoza, 1996).

El control de hongos fitopatógenos a través de fungicidas sintéticos continúa siendo la medida fitotécnica más importante para aumentar los rendimientos de los cultivos (Bernal *et al.*, 2005). Durante los últimos años se han sintetizado cientos de fungicidas y varias decenas tienen aplicación en forma de pulverizaciones foliares, de gránulos para tratamiento del suelo, para tratamientos de frutos y como recubrimientos para semillas. Los fungicidas presentan una gran diversidad de estructuras activas, cada producto se usa específicamente contra una o unas pocas especies de hongos. Esto puede deberse a una diversidad en los mecanismos de acción o a sensibilidades específicas de cada patógeno (Primo, 1995). Cabe resaltar que a pesar de su importancia para la agricultura estos fungicidas presentan efectos adversos, por ejemplo la detención de exportaciones por residuos en producto de consumo y daños al medio ambiente (Ramírez y Jacobo, 2002).

2.3. Uso indiscriminado de los plaguicidas

El control químico de plagas y enfermedades es uno de los métodos más efectivos que posee el hombre. Sin embargo, la aplicación indiscriminada o su efecto acumulativo provoca numerosos impactos tales como la contaminación

ambiental, intoxicaciones, daños severos a la salud y que los microorganismos desarrollen resistencia al ingrediente activo (Bernal y Armario, 2002).

En la agricultura moderna la aplicación excesiva de plaguicidas comerciales se ha elevado considerablemente, y esto ha traído graves consecuencias en el mundo. Cada año ingresan al mercado entre 500 y 1,000 nuevas sustancias, generándose entre 300 y 400 toneladas de desechos peligrosos (Frank, 1996).

2.3.1. Efectos perjudiciales al medio ambiente

En el área agrícola la contaminación ambiental por estos productos, se produce cuando éstos se utilizan en mayor cantidad de la que pueden absorber los cultivos, causando que los residuos tóxicos sean arrastrados por el agua o el viento antes de que puedan ser absorbidos (Flores *et al.*, 2002), o también cuando se arrojan envases de plaguicidas a fuentes de agua o al terreno. Se ha descubierto que algunos de ellos pueden bioacumularse en las cadenas tróficas, y pueden persistir en el ambiente durante periodos muy prolongados (Ferrer, 2003). Además incluye la contaminación del manto freático, salinidad de suelos, mutaciones genéticas y agua (Frank, 1996).

La contaminación del agua por este tipo de compuestos puede afectar diversos sistemas biológicos. Una vez contaminada el agua puede pasar mucho tiempo para su saneamiento, existiendo el riesgo de la bioacumulación (Dalvie *et al.*, 2003). Por su parte Bernal y Armario (2002) citan, que los daños

al medio ambiente se calculan alrededor de 100,000 millones de dólares/año, de ellos 8,000 millones corresponden a los Estados Unidos.

2.3.2. Efecto sobre organismos superiores

Debido a que los pesticidas se caracterizan por tener un amplio espectro, afectan a los enemigos naturales igual que a los organismos benéficos (Anderson *et al.*, 2003), además de afectar a especies silvestres las que es importante señalar que suelen ser muy susceptibles a los productos químicos, debido a los hábitos alimenticios lo cual hace que no presenten mecanismos de detoxificación para evitar el efecto de los plaguicidas.

Ejemplo de ello es el fungicida fenólico pentaclorofenol (PCP) es altamente tóxico y como resultado de sus propiedades biocidas afecta adversamente a los organismos en suelo y agua en concentraciones relativamente bajas (Barcenás, 2005).

2.3.3. Efecto sobre los humanos

Según datos de la Oficina Internacional del Trabajo (OIT) y la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés), estiman que el número de accidentes y enfermedades relacionados con el trabajo cobra anualmente más de 2 millones de vidas y parece estar aumentando debido a la rápida industrialización de algunos países en desarrollo. En el sector de la agricultura, que emplea a la mitad de la fuerza laboral del mundo y predomina en la mayoría de los países en desarrollo, el uso de plaguicidas provoca unas

70,000 muertes por envenenamiento cada año, y al menos siete millones de casos de enfermedades agudas y de larga duración (WHO, 2005).

El daño que ocasionan estos productos va desde toxicidad a quienes manejan los agroquímicos (Whalen *et al.*, 2003), así como a los consumidores debido a los residuos presentes en los alimentos (Palacios y Moreno, 2004). Muchos plaguicidas pueden imitar la acción de hormonas humanas, perturbando los procesos endócrinos, lo cual puede resultar en malformaciones y cáncer.

2.3.4. Resistencia a plaguicidas

Como respuesta a la utilización masiva y a veces indiscriminada de estos productos, ha incrementado la población de organismos fitopatógenos resistentes (Cooke *et al.*, 2003; Leroux, 2003; Guerrero *et al.*, 2007) por lo que no se deben repetir tratamientos con la misma materia activa (Alonso, 2002).

La resistencia genética que manifiestan los organismos a estos productos químicos, es un efecto genético que deriva de la naturaleza intrínseca del veneno por parte de individuos de dicha población. La resistencia no se adquiere solo a algunas sustancias activas sino a todos los plaguicidas, se han reportado casos de resistencia a quimioesterilizantes, antibiótico, toxinas de bacterias, funguicidas, herbicidas, anticoagulantes, bromuro de metilo y otros agentes. La resistencia a los plaguicidas es actualmente el problema principal en la producción agrícola en el ámbito mundial. Así, en 1990 se había reportado

80 casos de plantas resistentes a los herbicidas y 70 casos de hongos resistentes a fungicidas entre otros casos (Bernal y Armario, 2002).

2.3.5. Tendencia de nuevas alternativas

En los últimos años la opinión pública para reducir el uso de fungicidas sintéticos en la agricultura ha aumentado. Se han expresado inquietudes sobre el daño que ocasiona el uso de estos productos en el ambiente, así como el riesgo potencial para la salud (Abad *et al.*, 2007).

Es prioritaria la búsqueda de opciones para el manejo de plagas y enfermedades con un menor costo e impacto ambiental, pero con la misma efectividad (Montes, 1996). La utilización de alternativas de control de enfermedades no contaminantes, es de suma importancia para lograr una eficiente producción agrícola sin el deterioro ambiental, con alimentos más saludables sin afectar la calidad del mismo. Los aceites y extractos vegetales con propiedades plaguicidas pueden tener un papel importante en un sistema ecológico (Bravo *et al.*, 2000).

2.4. Uso de extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos

En los últimos años la sociedad ha priorizado los aspectos ambientales y ha dirigido un importante número de investigaciones hacia el hallazgo y establecimiento de nuevas alternativas para el manejo integrado de plagas y enfermedades de las plantas con menos efectos negativos al ambiente (Vaillant *et al.*, 2009).

México está incluido entre los países con mayor diversidad vegetal en el mundo, sin embargo solo a una pequeña parte de las especies vegetales se les da alguna utilidad (Sarukhan, 1995). Desde hace muchos años el uso de extractos vegetales acuosos o de material vegetal molido y hecho polvo se ha usado para la prevención y control de enfermedades. Recientemente, Montes *et al.* (2000), publicaron un artículo en el que presenta un análisis retrospectivo de las investigaciones realizadas sobre las propiedades antifúngicas de las plantas superiores. El estudio reporta un total de 206 especies de plantas evaluadas contra la actividad de 26 especies de hongos fitopatógenos, incluyendo pruebas de invernadero y campo en algunos casos. Los resultados han indicado que entre 32 y 51 % de las plantas evaluadas interactúan con los hongos y la respuesta de los patógenos varía desde la estimulación biológica hasta su total inhibición.

Portillo *et al.* (2005), reportaron que a partir de *Cestrum nocturnum* (huele de noche), se obtuvieron 16 compuestos acetónicos y dos acuosos, que inhibieron la germinación de las esporas de *Fusarium* spp. provenientes de papaya y ciruela. Asimismo, estudios *in vitro* realizados con polvos y extractos de guamúchil, mostraron inhibición (50 a 78 %) del crecimiento micelial en *Botrytis cinérea* en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.); las propiedades antifúngicas dependieron del órgano de la planta y la época de la cosecha, pues el mejor efecto resultó de extractos de hojas cosechadas en los meses con mayor estrés ambiental (Bautista *et al.*, 2003), análisis preliminares realizados

por resonancia magnética nuclear evidenciaron la presencia de un triacil glicerol en la fracción más activa de extractos de guamúchil (Barrera *et al.*, 2002).

Destaca también la demostración de las propiedades biocidas del ajo, cebolla y puerro para inhibir el desarrollo *Fusarium moniliforme* y *Fusarium oxysporum radices cucumerinum* (Auger *et al.*, 2004). Otros resultados confirman que los extractos etanólicos como el ajo (*Allium sativum* L.), la hierba santa (*Piper auritum*) y el eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) reducen significativamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en un 54.34, 48.82 y 39.03 % respectivamente (Baños *et al.*, 2004). Además, los sulfuros volátiles: disulfuro de dimetilo, disulfuro de dipropilo y disulfuro de dialilo, producidos durante la degradación de los tejidos del género *Allium*, inhiben diferentes especies fúngicas como *Aphanomyces euteiches*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum radices cucumerinum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia sclerotiorum* (Auger *et al.*, 2004).

Sanabria *et al.* (2006), evaluaron *in vitro* los extractos de *Lippia organoides* y *Phyllanthus niruri* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Las diferencias entre los tratamientos fueron significativas. *Lippia organoide* a menor concentración resultó más efectiva que *Phyllanthus niruri*, inhibiendo en

un 70 y 90 % *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* y *Colletotrichum gloeosporioides* respectivamente.

Bansod y Rai (2008), evaluaron quince aceites extraídos de plantas medicinales para determinar su actividad contra *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger* por el método de difusión en disco. Obteniendo máxima actividad antimicótica con los aceites de *Cymbopogon martini*, *Eucalyptus globulus* y *Cinnamomum zylenticum* en comparación con el control (nitrato de miconazol).

Cueto *et al.* (2010) determinaron la actividad antifúngica del aceite esencial del orégano mexicano (*Lippia berlandieri*) contra *Fusarium oxysporum* evaluando sus efectos sobre el crecimiento micelial del hongo por medio de las fases de contacto y volátil y en términos de producción de biomasa. También fue evaluada la capacidad del aceite esencial para desinfectar semillas de tomate infestadas con el mismo patógeno. Las concentraciones mínimas inhibitorias para la fase de contacto y volátil fueron de $0.2 \mu\text{l ml}^{-1}$ de medio y $0.15 \mu\text{l ml}^{-1}$ aire respectivamente y la producción de biomasa fue totalmente inhibida a la concentración de $0.2 \mu\text{l ml}^{-1}$ de caldo. El nivel mínimo del inóculo requerido para producir el 100 % de infestación en las semillas fue de 10^5 esporas ml^{-1} , mientras que la concentración de 0.5 % de aceite esencial inhibió completamente la colonización de las semillas sin afectar su capacidad de germinación.

Rodríguez *et al.* (2012), obtuvieron dos extractos de la especie vegetal *Acacia farnesiana*: uno hidroalcohólico (Extracto A) y otro acuoso (Extracto B). Se le determinó el efecto antifúngico de ambos extractos sobre el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en el tiempo y se le realizó el correspondiente análisis químico cualitativo. Los extractos mostraron más de un 90 % de inhibición del crecimiento micelial desde la primera evaluación realizada a las 72 h después de la inoculación. Además, se comprobó efecto fungicida de los mismos sobre el hongo. Adicionalmente, se observó la presencia de metabolitos con actividad antimicrobiana reconocida como: flavonoides, taninos, fenoles, alcaloides y saponinas.

En el rubro de la medicina humana, para el control de ciertas enfermedades infectocontagiosas como es el caso de la Tuberculosis, se han utilizado extractos (Molina *et al.*, 2006) de algunas plantas medicinales de México empleando el método colorimétrico de alamar azul (MABA), en donde los extractos CH₂Cl₂:MeOH (1:1) de *Rumex hymenosepalus*, *Phoradendron robinsonii*, *Larrea divericata* y *Amphiteryngium adstringens* inhibieron el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv en 67, 99, 100 y 95 %, respectivamente, al ser evaluados por el método radiorespirométrico Bactec 460 a 50 µg mL⁻¹ (Jiménez *et al.*, 2010). Otra planta del norte de México que han sido evaluada contra este mismo patógeno, es la raíz del tabardillo (*Calliandra californica*) (Encarnación *et al.*, 2006; Camacho *et al.*, 2008). Lo anterior es confiable, ya que estos extractos poseen ventajas positivas porque

son de origen biológico, biodegradables y reducen el impacto sobre la salud humana y el medio ambiente (Montes, 1996; Vázquez *et al.*, 1996; Bravo *et al.*, 2000). La actividad antiviral de los metabolitos de *Larrea tridentata* también ha sido claramente detectada en el trabajo de Gnabre *et al.* (1995), donde se señala que el lignano 3-O-methyl del ácido nordihydroguaiaretico aislado de la resina del follaje tiene un efecto inhibitor en la actividad del virus del SIDA, ya que este lignano impide que el material genético de este virus se copie a si mismo, evitando la replicación del virus.

2.4.1. Importancia de los extractos vegetales

Las plantas ofrecen una fuente excelente de productos naturales biológicamente activos (Benner, 1993), para el combate de plagas y enfermedades de los cultivos. Una de las características de estos extractos es que pueden presentar varios efectos, ya que un mismo extracto puede tener un efecto sobre una plaga y sobre un hongo, a lo mismo que sobre una bacteria (Madrigal, 2005; Cháves, 2008).

Durante los últimos 30 años se ha generado un creciente interés por el uso de productos orgánicos para ser empleados como microbicidas agrícolas. Esto puede eliminar varios efectos adversos causados por el uso de compuestos sintéticos debido a la rápida biodegradabilidad de los metabolitos orgánicos, ya que estos desaparecen con facilidad del medio ambiente aéreo y del suelo después de que son aplicados en el campo (Tanaka y Andómuro, 1993).

Montes (1996), menciona que la búsqueda de alternativas de manejo de plagas y enfermedades de menor costo y menor impacto ambiental, pero con la misma efectividad. La utilización de extractos vegetales para el control de enfermedades representa una alternativa para el manejo integrado de los cultivos, debido a su bajo costo y al menor impacto sobre el ambiente y los alimentos.

2.4.2. Uso de aceites esenciales y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “*In Vitro*”

Existen reportes promisorios de evaluaciones “*in vitro*” de diversos extractos o aceites provenientes de plantas con actividad antifúngica, antimicrobiana, antiviral etc.

La evaluación de extractos de crucíferas (brócoli, coliflor y col) sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani in vitro*, mostraron que el extracto de coliflor fue el que inhibió el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* con un 60.27 % a los 6 días de incubación, seguido de la col con 42.2 % y del brócoli con 32.3 % de inhibición (López y Sánchez, 1988).

Un estudio realizado por Salazar (1985), demostró que la resina de la planta rastrera conocida comúnmente como alfombrilla (*Drimaria arenarioides*) al ser aplicada sobre los hongos *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*, inhibió su crecimiento, este extracto fue más eficiente contra *Rhizoctonia solani*, ya que fue inhibido hasta en un 85 % con la dosis de 5,000 ppm mientras que al hongo que menos afectó fue *Alternaria solani*.

En un estudio realizado por Sandoval *et al.* (1995), reportaron que el extracto de semilla de toronja fué usado como desinfectante, conservador de alimentos y para prolongar la vida de anaquel de frutos y verduras. El trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad *in vitro* del extracto de la semilla de toronja (“Citrucidal”) contra *Rhizoctonia solani* y *Erwinia carotovora*. Los resultados mostraron que el producto inhibió al 100 % el crecimiento micelial de los hongos en el medio de cultivo PDA, a concentraciones de 600 hasta 4,800 ppm de ingrediente activo.

Un estudio realizado por Garza *et al.* (1996), reportaron que los extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) a base de etanol, cloroformo e hidróxido de sodio inhibieron el desarrollo del hongo *Rhizoctonia solani* bajo condiciones *in vitro*.

Montes y Flores (2001), evaluaron el efecto del bicarbonato de sodio (Na_2CO_3), extractos acuosos, etanólicos, polvos y aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), epazote (*Telexys ambrosioides*), orégano (*Origanum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), solos y combinados entre sí, así como de los aceites esenciales de yerbabuena (*Mentha x piperita*) y ruda (*Ruta chalepensis*) sobre dos patógenos del sorgo: *Claviceps africana* y *Fusarium thapsinum*. La dosis letal mínima (Dlm) de los extractos acuosos *in vitro* varió de 1 a 6 % para *Claviceps africana* con los extractos de clavo, canela, epazote y Na_2CO_3 , mientras que para *Fusarium thapsinum* únicamente se determinó una Dlm para el clavo al 6 %; los otros

extractos no retrasaron el crecimiento de las colonias de los hongos o no mostraron ningún efecto sobre éstos.

Donli y Dauda (2003), reportaron la actividad antifúngica del extracto acuoso de semillas de *Moringa* spp. para el control de pudriciones en cacahuete (*Arachis hypogea* L.) y de otros hongos de postcosecha como *Rhizopus stolonifer*. También Zapata *et al.* (2003) dieron a conocer que los extractos acuoso y etanólico de Cardón lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert) sobre el desarrollo micelial de importantes hongos fitopatógenos, como *Phytophthora infestans*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium moniliforme*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria solani*, *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Lasiodiplodia teobroma*. Por otra parte, bajas concentraciones (10-30 %) de extracto acuoso de *Parthenium hysterophorus* pueden ser empleados de manera efectiva para inhibir la producción de biomasa de *Drechsleria tetramera*, *Aspergillus niger* y *Phoma glomerata* (Bajwa *et al.*, 2003).

Estudios con extractos etanólicos de hojaseén (*Flourensia cernua*), mejorana (*Origanum mejorana*) y trompetilla (*Bouvarnia ternifolia*) contra *Phytophthora infestans* y *Rhizoctonia solani*, mostraron que los extractos de hojaseén, mejorana y trompetilla tuvieron acción fungistática contra *Rhizoctonia solani*, inhibiendo el crecimiento micelial a las 96 h con respecto al testigo con un 84.8, 80.0 y 70.8 % respectivamente a una dosis de 20,000 ppm. Contra *Phytophthora infestans* se logró una inhibición micelial del 84.4, 100 y 77.2 %

con hojásén, mejorana y trompetilla respectivamente a las 48 h de incubación (Gamboa *et al.*, 2003).

Entre los agentes importantes productores de enfermedades en plantas se encuentra *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind. que produce la pudrición blanda de frutas y hortalizas. El aceite esencial de tomillo (*Thymus glandulosus* Lag. Ex H del Villar) (Plotto *et al.*, 2003) y los extractos de semillas de paraíso blanco (*Moringa oleífera* Lam.) (Velázquez *et al.*, 2005), reportaron efecto fungicida sobre el crecimiento micelial y la germinación de esporas de *Rhizopus stolonifer* en condiciones *in vitro*. Otros extractos de semillas, como los de *Lupinus exaltatus*, *Lupinus rotundiflorus* y *Lupinus montanus* (concentración respectiva en alcaloides de 2.42, 1.93 y 1.84 %) han demostrado también su capacidad antifúngica sobre el desarrollo del micelio de *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* (Bernal *et al.*, 2005).

García *et al.* (2006), evaluaron los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) para determinar su actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus*. Los resultados mostraron que ambos aceites presentaron actividad fungicida *in vitro* para el aceite esencial de orégano la dosis mínima fungicida fue de 1,000 ppm y de 2,000 ppm para el aceite esencial de canela, en medio de cultivo de malta-sal-agar con inhibición del 100 %. Sin embargo, al evaluar el efecto inhibitorio en postcosecha contra la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en almendra de nuez pecanera

irradiada, el aceite esencial de canela mostró mayor inhibición que el aceite esencial de orégano, ya que a los 30 días de almacenamiento a 85 % de humedad relativa y 25 °C, las nueces tratadas con 100 y 2,000 ppm presentaron la misma concentración de aflatoxinas que las nueces sin inóculo y en las nueces tratadas con aceite esencial de orégano, solo en las que se aplicó una dosis de 2,000 ppm hubo inhibición en la producción de aflatoxinas.

Zamora *et al.* (2005), determinaron el perfil de alcaloides en semillas de *Lupinus exaltatus*; así mismo, se evaluó *in vitro* la actividad antifúngica del extracto crudo de alcaloides y lupanina contra *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Para evaluar la actividad antifúngica, el extracto crudo de alcaloides y la lupanina a concentraciones de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mg mL⁻¹ fueron adicionados en el medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Después del período de incubación se midió el crecimiento radial del micelio y se determinó el porcentaje de inhibición. El análisis reveló la presencia de los siguientes alcaloides en el extracto: epiafilina, α-isolupanina, lupanina, afilina, dehidro-oxoesparteína y 3α-hidroxilupanina. Respecto a la evaluación antifúngica, el crecimiento micelial de *S. rolfsii* fue inhibido en 100 % con la concentración más alta del extracto crudo de alcaloides, mientras que para *A. solani* y *R. solani* la inhibición de micelio fue de 94.7 y 91 %, respectivamente. La lupanina afectó únicamente a *S. rolfsii* con la concentración más alta, mostrando una inhibición del crecimiento micelial de 89.5 %.

Diferentes estudios reportan que existe un efecto antibacteriano sinérgico entre el aceite esencial de *Origanum vulgare* y algunos compuestos químicos. Por ejemplo, el empleo de aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75 % en combinación con gentamicina inhibe totalmente el desarrollo de *Escherichia coli* aislada de muestras clínicas (Chávez *et al.*, 2008); este aceite en combinación con ácido láctico inhibe el desarrollo de coliformes fecales (Vatansever *et al.*, 2008) y al emplearlo en combinación con ácido acético presenta actividad bactericida contra *Staphylococcus aureus* (Souza *et al.*, 2006).

Barrera y Bautista (2008), evaluaron el efecto antifúngico de polvos, extractos y fracciones de hojas de *Cestrum nocturnum*, mediante bioensayos de inhibición micelial de tres aislados de *Rhizopus stolonifer*. Se observó una curva de respuesta dosis-efecto de los polvos a las concentraciones de 0.5, 2, 5 y 10 mg ml⁻¹ en los aislados de Cuautla y San Carlos. Los polvos tuvieron un efecto inhibitorio significativo de 10 a 44 %. Sin embargo los extractos etanólicos y acuosos no tuvieron efecto sobre la inhibición micelial de los tres aislados a las tres dosis probadas. Los extractos acetónicos tuvieron un efecto inhibitorio de 2 a 22 %. Los extractos metanólicos tuvieron un efecto inhibitorio significativo a dosis de 5 y 10 mg ml⁻¹ sobre los aislados de Cuautla (18 y 62 %, respectivamente) y San Carlos (14 y 76 %, respectivamente). El aislado de Yautepec presentó un mayor efecto a las tres dosis ensayadas con una inhibición del crecimiento micelial de 46 a 94 %. El extracto de metanol se sometió a una cromatografía en columna aislándose dos fracciones (8-11 y 12-19), las cuales presentaron una inhibición del crecimiento micelial de 6 a 66 % y

de 8 a 50 %, respectivamente, sobre los tres aislados de *Rhizopus stolonifer*. Estudios preliminares mostraron que estas fracciones corresponden a saponinas esteroidales.

También se ha evaluado la actividad fungicida *in vitro* de monoterpenos comúnmente encontrados en aceites esenciales (mentol, timol, alcanfor, citronelal y 1,8 cineol) a concentraciones de 0.5, 0.1 y 0.05 % p/v sobre *Rhizoctonia solani* que produce enfermedades en papa. El timol, mentol y citronelal inhiben al 100 % el crecimiento del hongo empleando concentraciones de 0.1 y 0.5 %; mientras que, alcanfor y 1.8 cineol muestran porcentajes menores (Vaillant *et al.*, 2009).

Bolívar *et al.* (2009), determinaron el efecto de la aplicación de los extractos etanólicos (EE) de hojas de *Azadirachta indica* ('nim'), *Phyllanthus niruri* ('flor escondida'), *Calotropis procera* ('algodón de seda'), *Lippia origanoides* ('orégano silvestre'), *Gliricidia sepium* ('mata ratón') y *Heliotropium indicum* ('rabo de alacrán'), colectadas en el estado Lara, Venezuela, en el control de la antracnosis ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloesporioides* en frutos de mango (*Mangifera indica*). El extracto se obtuvo por presión reducida y se determinaron los grupos de metabolitos secundarios (MS) presentes en ellos. El patógeno se hizo crecer en el medio nutritivo PDA. La determinación del efecto de los EE a una concentración de 2.5 % se hizo bajo tres métodos de aplicación *in vitro*. Frutos de mango fisiológicamente maduros fueron tratados con los extractos al 2.5 % y luego inoculados con el hongo. Se

encontró que las plantas diferían en los grupos de MS. El EE del *L. origanoides* y *H. indicum*, homogenizados en el medio, ocasionaron la mayor disminución del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*. Los EE de *L. origanoides* y *G. sepium* fueron los mejores tratamientos de postcosecha, ya que indujeron el 37 y 33 % menos de la enfermedad en los frutos de mango, respectivamente. Los resultados indican el potencial de los extractos para el manejo de la antracnosis del mango en postcosecha.

Carrillo *et al.* (2010), evaluaron ocho aceites esenciales extraídos de algunas especies aromáticas de la familia Lamiaceae sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* en condiciones de laboratorio. Reportaron diferentes metodologías de aplicación de los productos en estudio, encontrando que las más apropiadas son aquellas en que el aceite ejerce un efecto volátil. Los aceites esenciales fueron de: *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris* y *Pogostemon cablin*, evaluándose en su fase volátil, a través de su efecto sobre dos aislamientos de *Phytophthora infestans* (A13 y A15). Los aceites que mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* fueron los de *Thymus vulgaris* y *Mentha piperita*, los cuales redujeron el crecimiento del hongo en 92.1 y 89.9 % respectivamente.

Contreras *et al.* (2011), evaluaron *in vitro* los efectos de extractos metanólicos de alejandría (*Cowania plicata* D. Don.) y lentisco (*Pistacia lentiscus* L.), sobre dos especies de fitopatógenos de papa (*Solanum tuberosum*

L.), que fueron *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*. Reportaron la concentración inhibitoria (CI) de los extractos metanólicos en placa de PDA, encontrando que la menor concentración (CI₅₀) fue del extracto de hoja de lentisco a 2,000 ppm y la mayor (CI₉₀) de 16,000 ppm para *Colletotrichum coccodes*, mientras que con los extractos de flor de alejandría se obtuvo una (CI₅₀) de 3,000 ppm y una (CI₉₀) de 28,000 ppm sobre *Fusarium oxysporum*.

González *et al.* (2011), obtuvieron 17 aislados de *Fusarium* sp. de raíces de tomate con síntomas de marchitez. Nueve aislados fueron identificados como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Se determinó la patogenicidad de los aislados, uno de ellos nombrado como FOL 10 ocasionó los síntomas más severos. Dicho aislado se seleccionó para evaluar *in vitro* la dosis mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Se determinó la concentración de afinina como componente principal del extracto. La dosis letal media estimada fue de 164.2 µg ml⁻¹ de afinina, y la dosis letal 90 fue de 348.6 µg ml⁻¹ de afinina.

Moreno *et al.* (2012), evaluaron la actividad biológica *in vitro* de extractos etanólicos de frutos de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var *aviculare*) y de capsaicina, sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*, mediante dos técnicas: 1) técnica del pozo en agar-papa-dextrosa (PDA) con la adición 20 µL de cada uno de los tratamientos en concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1,000 ppm, 2) la técnica de dilución en agar (PDA) que consiste en realizar una mezcla homogénea entre las soluciones de los tratamientos y el agar (PDA) antes de

su solidificación. La actividad de los tratamientos se reflejó por la formación de un halo de inhibición y por el crecimiento radial del hongo, en cada técnica respectivamente. Los resultados obtenidos mostraron que tanto la capsaicina como los extractos de chile piquín inhibieron significativamente el crecimiento radial de *Aspergillus flavus*, siendo estos resultados estadísticamente comparables a los que se obtienen al aplicar el fungicida comercial captán.

2.4.3. Uso de aceites esenciales, polvos y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “En Invernadero”

Residuos de las plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*) y epazote (*Chenopodium ambrosioides*), se incorporaron al suelo, en una proporción de 10 g de residuo seco de cada una de las plantas, más 90 g de suelo infestado con *Rhizoctonia solani*. Los resultados de los tratamientos de epazote más *Rhizoctonia solani* y gobernadora más *Rhizoctonia solani* presentaron los mejores porcentajes de germinación de semilla, 92.9 y 88 % respectivamente comparados con los testigos infestados con *R. solani* y *Pythium aphanidermatum* sin los residuos de las plantas, que mostraron un 16 y 8 % de germinación de las semilla respectivamente (Salazar *et al.*, 1990).

El extracto acuoso al 2 % de *Tribulus cistoides* y *Kallstroemia máxima* igualó su eficiencia fungicida como el zineb en el tizón del crisantemo en invernadero, por lo que podría usarse en sustitución de este producto (Montes y Peralta, 1993).

Los trabajos realizados por Gamboa (1997), con extractos acuosos, para prevenir el daño radicular del tomate causado por *Fusarium oxysporum*, en invernadero, mostraron disminución de índice de daño de la pudrición de raíz y corona del tomate con el extracto acuoso de *Larrea tridentata*, *Chenopodium ambrosoides* y bulbo de lechuguilla (*Agave lechuguilla*) a las concentraciones de 6 y 9 %.

Lara *et al.* (1997), sembraron bajo condiciones de invernadero semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Canario 107 en suelo previamente infestado con inóculo de *Rhizoctonia solani* y *Pythium aphanidermatum*, al cual se le agregó un polvo a base de hojas y ramas de gobernadora al 2 % p/p. Ellos observaron que la muerte preemergente fue más alta (80 a 100 %) en los tratamientos inoculados con los patógenos, excepto en los adicionados con gobernadora, en los cuales el porcentaje de germinación fue del 100 %.

Brown (2000), llevó a cabo una serie de ensayos para determinar la efectividad del extracto comercial de semillas de Neem (*Azadirachta indica* Juss.) NeemX, sobre el áfido *Myzus persicae* (Sulzer) sobre pimentón (*Capsicum annum* var. *grossum*) bajo condiciones de invernadero en la localidad de Panguilemo (Talca, VII región de Chile). Para ello evaluó distintas dosis del insecticida NeemX, una dosis del insecticida tradicional Aztec 140EW y un tratamiento control de sólo agua. Las dosis de NeemX fueron evaluadas en un rango de 1 a 20 cc/l, correspondientes a 4 y 80 ppm de *Azadirachta indica* respectivamente. Los resultados obtenidos demostraron que dosis de 1

cc/l fueron insuficientes para lograr un efecto insecticida. La LC_{50} fue de 1.067 %, correspondiente a una dosis de 10.7 cc/l (aproximadamente 42.8 ppm de neem). La mayor reducción de la población de áfidos con respecto al control, fue obtenida con NeemX al 2 %, correspondiente a una dosis de 20 cc/l (aproximadamente 80 ppm de *Azadirachta indica*), alcanzando niveles de mortalidad de 98.63 %, sin presentar diferencias significativas con el tratamiento estándar (Aztec 140EW), el cual logró una mortalidad de 100 %.

Ramírez *et al.* (2001), evaluaron los extractos acuosos de 15 plantas silvestres de la región (Chiapas, México), pertenecientes a géneros que han sido mencionados en la literatura como promisorias para el control de piéridos (Grainge y Ahmed, 1988). Se desarrolló un método para evaluar extractos acuosos sobre plantas de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) infestadas con larvas de *Leptophobia aripa* elodia en un invernadero, y se comparó el porcentaje de mortalidad y repelencia de larvas con cada tratamiento con relación al testigo (agua). El método desarrollado permitió identificar que el instar II de la larva es el más adecuado para la evaluación, y reduce al mínimo la mortalidad por manipulación o por otros factores ajenos al efecto de los extractos. Ninguna de las plantas evaluadas mostró diferencias significativas con respecto al testigo. Sin embargo, las especies *Pteridium aquilinum*, *Equisetum myriochaetum* y *Senecio salignus* mostraron porcentajes de mortalidad de 27, 25 y 19 %, respectivamente.

Salgado *et al.* (2008) evaluaron el efecto del extracto crudo (EC) y la mezcla de compuestos bioactivos afinina (A) y decatrién bornilo (DB), obtenidos de la raíz de *Heliopsis longipes* 'A. Gray' Blake. Para el control de la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en invernadero y campo. En invernadero, dos de las concentraciones del EC (700/70 y 70/7 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y A/DB (700/70 y 70/7 $\mu\text{g mL}^{-1}$), redujeron la incidencia de la antracnosis en 90 %, sin reducción significativa ($p>0.05$) del peso seco de las plantas tratadas.

Aislan *et al.* (2009), evaluaron la actividad antifúngica de los extractos acuosos a una concentración de 1, 2 y 3 % (p/v) de las siguientes especies albahaca (*Ocimum basilicum* L.), comino negro (*Nigella la saliva* L.), pimienta negro (*Piper nigrum* L.), el apio (*Apium graveolens* L.) hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.), laurel (*Laurus nobilis* L.), perejil (*Petroselinum crispum* Mill.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) en el cultivo del frijol bajo condiciones controladas contra la roya del frijol. Todos los extractos, excepto el perejil, cuando se aplicaron 2 h antes de la inoculación del patógeno controló significativamente (26.5 a 96.1 %) el desarrollo de la roya. El extracto de comino negro a las concentraciones de 2 y 3 % controló la roya siendo similar al fungicida mancozeb, siendo este extracto el más efectivo seguido de laurel. No hubo ningún efecto sinérgico, cuando se combinaron los extractos de comino y laurel negro. Ninguno de los extractos de estas especies analizadas fueron fitotóxicos para las hojas de frijol.

Con el fin de conocer el potencial repelente sobre adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) evaluaron los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), naranja (*Citrus sinensis*), clavo (*Eugenia caryophyllata*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Los bioensayos se realizaron en invernadero por el método del cilindro de acrílico, donde 20 adultos se expusieron a un disco de hoja de frijol tratado con aceite esencial. La repelencia se midió por la diferencia entre insectos posados y no posados en el disco, a las tres, cuatro, cinco, seis y veinticuatro horas después de la aplicación. Los aceites esenciales de canela y tomillo a la concentración del 1 % mostraron la mayor repelencia (91 y 93 %, respectivamente), el aceite esencial de clavo fue poco eficiente, en tanto el aceite esencial de naranja no ocasionó repelencia. El aceite de tomillo fue estable hasta las veinticuatro horas (Santiago *et al.*, 2009).

Guerrero (2012), evaluó en condiciones de invernadero el aceite esencial de *Lippia origanoides* sobre *Fusarium* sp. y *Colletotrichum* sp. en el cultivo de Ají cayena (*Capsicum annum*). Para *Fusarium* sp. en la concentración de 473.5 mg l⁻¹, se presentó el menor porcentaje de plantas muertas con 16.5 %. Tanto en la menor concentración (236.75 mg l⁻¹) como en el testigo se presentaron valores de 22.2 y 39.3 % respectivamente. Para *Colletotrichum* sp., se observaron porcentajes de mortandad de 11.8, 19.3 y 35.3 % tanto para las concentraciones de 473.5 y 236.75 mg l⁻¹, como para el testigo.

Díaz *et al.* (2013) evaluaron el efecto de extractos fermentados y no fermentados de *Larrea tridentata* y *Flourensia cernua* sobre la inhibición micelial *in vitro* e *in vivo* de *Phytophthora capsici* en plantas de tomate (*Solanum*

lycopersicum L.). Los extractos los obtuvieron con acetona y metanol mediante el método de Sóxhlet y sonicación, posteriormente los solventes se separaron usando un rotavapor. La incidencia de los daños del fitopatógeno en las plantas varió de 100 % con el tratamiento inoculado con *Phytophthora capsici* a 66.67 % correspondiente al tratamiento FSGA (extracto fermentado, sóxhlet, *Larrea tridentata* y acetona) a 2,000 ppm siendo este el mejor tratamiento. Los valores de la severidad de la enfermedad en las plantas mostraron un rango de 95.8 % para el testigo inoculado con *P. capsici* a 16.6 % para el tratamiento FSGA a 2,000 ppm.

2.4.4. Uso de aceites esenciales y extractos de plantas para el control de agentes fitopatógenos “En Campo”

Montes *et al.* (1990), obtuvieron buenos resultados en el control de la roya (*Uromyces appendiculatus*) del frijol, en donde aplicaron extractos acuosos al 2 % de *Pithecellobium dulce*, *Acacia farneciana* Willd, *Hibiscus rosa-sinesis* y *Tribulus cistoides*. Se aumentó en más del doble la producción de frijol, en un ciclo de cultivo en donde el daño de la roya fue muy severo.

Montes y Martínez (1992), obtuvieron resultados alentadores en el control de la cenicilla (*Erysiphe cichoracearum* De Cand.) y el mildiú (*Pseudoperonospora cubensis* Rost.), utilizando extracto vegetales en la calabacita. La producción se incrementó en un 50 % con aspersiones semanales del extracto acuoso al 2 % de *Tribulus cistoides* en presencia de ambas enfermedades, pero predominando el mildiú; en tanto que en presencia

únicamente de cenicilla, los mejores resultados se obtuvieron con *Chenopodium álbum* que aumentó la producción en un 38 %. En cambio contra el tizón tardío (*Phytophthora infestans* DeBary) del jitomate, algunos extractos sólo retrasaron inicialmente el desarrollo de la epifitía y posteriormente tuvieron un daño similar al testigo sin tratamiento; esto se interpreta como un efecto fungistático que no es suficiente, dadas las elevadas tasas de crecimiento de las poblaciones del hongo y la rapidez con que se multiplica en condiciones climáticas óptimas (Montes y Fraire, 1994; Goodwin *et al.*, 1992).

Al evaluar la supervivencia de plántulas de tomate trasplantadas en un suelo infestado con los patógenos *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora capsici* y con sus combinaciones, García *et al.* (1997) encontraron un notable efecto en el abatimiento del porcentaje de incidencia de mortandad de plantas de chile inoculadas con esos hongos, lo anterior se observó cuando se adicionó gobernadora molida en polvo en proporción de 1 % p/p. Estos autores señalan que tratándose de *P. capsici*, lograr un abatimiento tan importante en el porcentaje de mortandad (54 % en ausencia de gobernadora a 6.25 % en presencia de *Larrea tridentata* al 1 %), es prácticamente imposible, sin la aplicación de fungicidas sistémicos de alto costo económico.

Solís (2002), demostró la eficiencia de la aplicación en campo del extracto vegetal de *Heliopsis longipes* (chilcuage) en la inhibición de *F.*

oxysporum en el cultivo de papa, que provocó 0 % de incidencia y severidad de marchitez por *F. oxysporum* en el cultivo de papa.

Rodríguez y Montilla (2002), evaluaron el efecto del extracto de semilla de *Citrus paradisi* (Citrex) sobre la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici in vitro* y sobre la marchitez causada por el mismo patógeno en tomate. Para la evaluación del efecto del extracto sobre la marchitez en plantas de tomate se utilizaron cinco tratamientos: inmersión de raíces de plantas en la solución de Citrex antes del trasplante, aplicación semanal al follaje; aplicación semanal al suelo; aplicación semanal al suelo y al follaje; e inmersión de raíces de plantas al trasplante más la aplicación semanal al suelo. El testigo fue suelo infestado sin la aplicación del producto. La inmersión de raíces de plantas en la solución de Citrex más la aplicación semanal al suelo logró reducir la marchitez en un 85 %, seguido por la aplicación combinada al suelo y al follaje con un 64 % de reducción. La aplicación de Citrex al follaje o al suelo ocasionó una reducción del 42 %. Los resultados indican la posibilidad de controlar patógenos del suelo con el uso del extracto de semilla de *C. paradisi*.

Salgado *et al.* (2008) evaluaron el efecto del extracto crudo (EC) y la mezcla de compuestos bioactivos afinina (A) y decatrién bornilo (DB), obtenidos de la raíz de *Heliopsis longipes* 'A. Gray' Blake. Para el control de la antracnosis del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en invernadero y campo. También evaluaron el efecto sobre la colonización de la raíz del frijol por hongos micorrízicos vesículo arbusculares (HMVA) y la nodulación de bacterias fijadoras de nitrógeno. En

campo, las concentraciones evaluadas de EC (70/7 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y A/DB (70/7 $\mu\text{g mL}^{-1}$), redujeron la incidencia de la antracnosis en 88 %, sin efecto significativo sobre el peso seco de las plantas tratadas ($p>0.05$), lo que confirmó la capacidad de estos compuestos para reducir la enfermedad. La aplicación del EC y la mezcla A/DB en campo no afectó el establecimiento de HMVA y bacterias fijadoras de nitrógeno en las raíces de frijol.

2.4.5. Metabolitos secundarios de las plantas con actividad antifúngica

Actualmente, los estudios tienden a concentrarse sobre nuevos componentes bioactivos como lo son los metabolitos secundarios de plantas: terpenoides, alcaloides, fenoles, lectinas, aceites esenciales, flavonoides, taninos y polifenoles. (Lagunes *et al.*, 1984; Cowan, 1999; Rodríguez y Sanabria, 2005; Zamora *et al.*, 2005). Sus mecanismos de acción son variables; 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 atribuye que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha considerado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999). Ciertamente, las plantas poseen un enorme y desconocido reservorio de

sustancias derivadas de sus actividades metabólicas enfocados a su sistema de defensa en contra de microorganismos, insectos y herbívoros (Thuille, 2003). Sus propiedades fungistáticas o fungicidas varían de acuerdo a la época del año y al órgano de la planta empleado (semilla, raíz, hojas, etc.) (Bautista y Barrera, 2001).

Dos terpenoides extraídos del epazote (*Chenopodium ambrosoides*), el cis p-menthadiene 1(7), 8 ol-2 y el ascaridol, mostraron una fuerte actividad fungicida sobre *Sclerotium rolfsii* (hongo parásito del frijol, zanahoria, sorgo y cacahuate) con una inhibición del 90%. Así también el girasol (*Helianthus annuus*) produce terpenoides antifúngicos, los ácidos kaurenico y angeloylgrandiflorico, ambos inhibitorios del crecimiento de las hifas de *Verticillium dahliae* y de *Sclerotinium sclerotium* (Lagunes et al., 1984).

Castillo (2004), analizó veinte plantas del Parque Nacional Terepaima, en el estado Lara, Venezuela, en el cual se incluían *Phyllanthus niruri*, *Heliotropium indicum* y *Lippia origanoides*. Este autor determinó la existencia de metabolitos secundarios (MS) en las hojas de dichas plantas y encontró similitudes en cuanto a la presencia de alcaloides básicos, débilmente básicos, sales cuaternarias de amonio y aceites esenciales. Los flavonoides fueron positivos en *Phyllanthus niruri* y *Lippia origanoides*, y los taninos y polifenoles en esta última y en *Heliotropium indicum*. A los fenoles se les atribuyen funciones de defensa contra insectos, resistencia a parásitos y regulación de los procesos de crecimiento por interacción con hormonas vegetales, al igual que los alcaloides

y terpenoides, de allí la importancia que tienen desde el punto de vista fitoquímico (Marcano y Hasegawa, 2002). La presencia de estos MS en estas y otras especies de plantas representan un potencial para disminuir el uso de agroquímicos que no solo atentan contra la ecología y la salud, sino que también permanecen en el medio ambiente por años (Castillo, 2004; Rodríguez y Sanabria, 2005).

Por lo anterior existen antecedentes de numerosos reportes promisorios de evaluación de diversos extractos vegetales, con actividad sobre los hongos fitopatógenos (Garza *et al.*, 1996; Gamboa *et al.*, 2003; García *et al.*, 2006; Barrera y Bautista, 2008; Carrillo *et al.*, 2010; Contreras *et al.*, 2011; Moreno *et al.*, 2012). En este contexto el caso del hojasén (*Flourensia cernua* DC.) que crece en el desierto Chihuahuense de México, es sobresaliente ya que se ha demostrado efecto fungistático sobre hongos fitopatógenos (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2010).

2.5. Perspectivas del uso del extracto de *Flourensia cernua* DC.

El aprovechamiento de los recursos vegetales del Estado de Coahuila, México, representa una excelente oportunidad para el desarrollo de nuevas alternativas en el control de fitopatógenos. En el Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) se desarrollan proyectos de investigación cuyo objetivo principal es la utilización de las plantas del semidesierto para obtener compuestos bioactivos y productos para el control de microorganismos que afectan a los cultivos de importancia comercial.

Entre algunas de las especies vegetales de interés se encuentra el hojásén (*Flourensia cernua* DC), la cual es una especie endémica que crece en las zonas semiáridas de México y contiene polifenoles, lactonas, benzofuranos, y compuestos de benzopiranos, que le dan un uso potencial como bioplaguicida (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011).

2.5.1. Ubicación taxonómica

Vines (1960) ubica a la planta de hojásén (*Flourensia cernua* D.C.) de la siguiente forma:

Reino: Methophyto
Clase: Angiospermae
Orden: Compunulatae
Familia: Asteraceae
Género: *Flourensia*
Especie: *cernua* D.C.

2.5.2. Especies del género *Flourensia*

Blake (1913), describe 23 especies de este género, 9 mexicanas y 14 sudamericanas; Correl y Johnston (1970), indican que *Flourensia* es un género de 24 especies distribuidas en Norteamérica y Sudamérica; Dillon (1976) reporta 2 nuevas especies de este género encontradas en el Estado de Chihuahua (*Flourensia pulcherrima* y *F. monticola*) y Loach (1988), menciona que el género está compuesto por 29 especies. Delbón *et al.* (2011), menciona que el género *Flourensia* DC. comprende 32 especies que a continuación se enlistan:

- *Flourensia angustifolia* (DC.) S.F.Blake
- *Flourensia blakeana* M.O.Dillon
- *Flourensia cajabambensis* M.O.Dillon
- *Flourensia campestris* Griseb.
- *Flourensia cernua* DC.
- *Flourensia collodes* (Greenm.) S.F.Blake
- *Flourensia dentata* S.F.Blake
- *Flourensia fiebrigii* S.F.Blake
- *Flourensia glutinosa* (B.L.Rob. & Greenm.) S.F.Blake
- *Flourensia heterolepis* S.F.Blake
- *Flourensia hirta* S.F.Blake
- *Flourensia hirtissima* S.F.Blake
- *Flourensia ilicifolia* Brandegees
- *Flourensia laurifolia* DC.
- *Flourensia leptopoda* S.F.Blake
- *Flourensia macroligulata* Seeligm.
- *Flourensia macrophylla* S.F. Blake
- *Flourensia microphylla* (A.Gray) S.F.Blake
- *Flourensia monticola* M.O.Dillon
- *Flourensia niederleinii* S.F.Blake
- *Flourensia oolepis* S.F.Blake
- *Flourensia peruviana* M.O.Dillon
- *Flourensia polycephala* M.O.Dillon
- *Flourensia polyclada* S.F.Blake
- *Flourensia pringlei* (A.Gray) S.F.Blake
- *Flourensia pulcherrima* M.O.Dillon
- *Flourensia resinosa* (Brandegees) S.F.Blake
- *Flourensia retinophylla* S.F.Blake
- *Flourensia riparia* Griseb.
- *Flourensia solitaria* S.F.Blake
- *Flourensia suffrutescens* (R.E.Fr.) S.F.Blake

- *Flourensia thurifera* (Molina) DC.
- *Flourensia tortuosa* Griseb.

2.5.3. Descripción Botánica

Flourensia cernua es un arbusto muy ramificado con una altura hasta 2 metros (m), que exuda una sustancia resinosa con olor a alquitrán (Correl y Johnston, 1970). La planta tiene ramas delgadas, resinosas, color café a gris (Vines, 1960) con hojas alternas, compuestas de dos folíolos, elípticas a oblongas de 17 a 25 milímetros (mm) de largo y 6.5 a 11.5 mm de ancho, agudas a ambos lados, haz verde oscuro y a veces resinoso, envés más pálido y pecíolo de 1-2.5 mm (Correl y Johnston, 1970). Las flores son cabezuelas en corimbos o panículas y presentan de 12 a 20 flores por cabezuela (Vines, 1960). El fruto es un aquenio de 6 mm de largo y 2 mm de ancho, lateralmente comprimido, ápice muy veloso y de 2 a 4 aristas desiguales y ciliadas de 2-3 mm de largo, casi obscurecidas por los pelos largos del cuerpo del aquenio (Benson y Darrow, 1981).

2.5.4. Nombres Comunes

Se le conoce comúnmente de varias formas, ya que se encuentra tanto en Estados Unidos de Norteamérica como en México. Los nombres que se le da en los Estados Unidos de Norteamérica son: tarbush, hojasén, american brush, black brush, y barnish-brush (Benson y Darrow, 1981; Correl y Johnston, 1970; Gay *et al.*, 1970; Vines, 1960). En México se le conoce como hojasén, arbusto de alquitrán y escobilla negra (Arredondo, 1981).

2.5.5. Distribución geográfica

La gobernadora (*Larrea tridentata*) junto con el hojasén (*Flourensia cernua*) son, ecológicamente dominantes y ampliamente distribuidas en las zonas semiáridas de los desiertos Chihuahuense y Sonorense del norte de México (Granados *et al.*, 2011); así como en el desierto Mojave en la zona árida de California y Suroeste de Estados Unidos (Rundel *et al.*, 1994). Se estima que el 25 % de los 500,000 km² del desierto Chihuahuense están cubiertos con estos arbustos del semidesierto (Hernández *et al.*, 2008).

El hojasén se localiza en suelos con gran cantidad de carbonato de calcio y suelos arenosos (Blake, 1913; Buffington y Herbel, 1965). En México se encuentra en los estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, San Luís Potosí, Zacatecas, México, D. F. (Vines, 1960; Müller, 1940; Miranda y Hernández, 1963; Marroquín *et al.*, 1964; Rzedowski, 1978; Martínez, 1993; Briones y Villarreal, 2001) (Figura 4).

En los Estados Unidos de Norteamérica el hojasén se localiza en el oeste de Texas y sur de Nuevo México y Arizona (Vines, 1960). Se encuentra en altitudes que van de los 1000 a 2000 metros sobre el nivel del mar (Gay *et al.*, 1970). Sin embargo, algunos autores mencionan que la altitud predominante son los 1900 msnm y pendientes del 1 a 6 % (Arredondo, 1981; González, 1975; Silva, 1980).

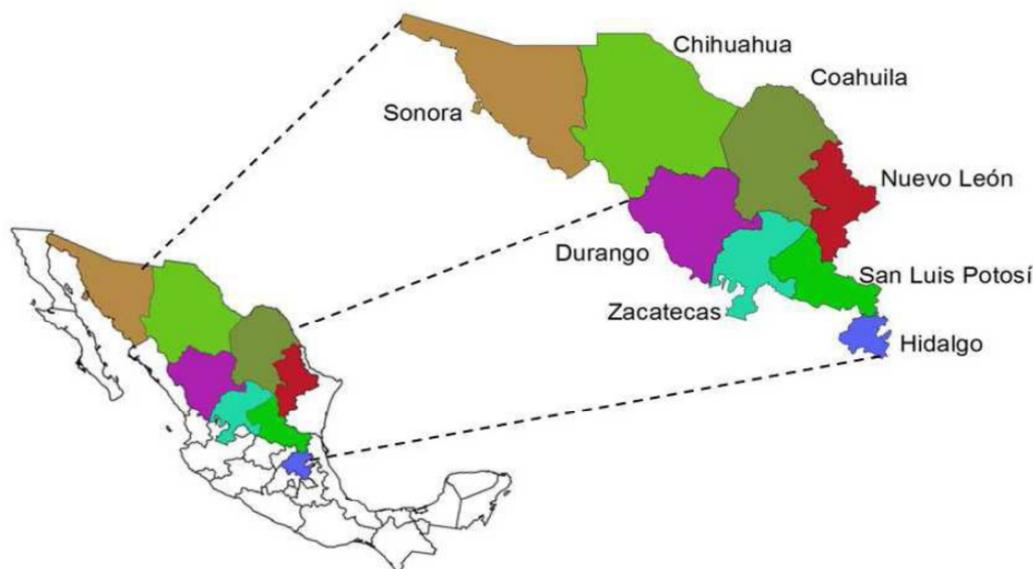


Figura 4. Distribución de *Flourensia cernua* DC en la República Mexicana
Fuente: Jasso de Rodríguez *et al.* (2012)

2.5.6. Especies asociadas

Las principales especies de arbustos que se relaciona con *Flourensia cernua* son: *Larrea tridentata* (Villarreal y Valdés, 1992-1993; Granados *et al.*, 2011), *Yucca filifera*, *Atriplex canescens*, *Castela texana*, *Acacia fernesiana*, *Prosopis juliflora*, *Agave lechuguilla*, *Parthenium incanum*, *Fouquieria splendens* y *Acacia constricta* (COTECOTA, 1979), las cuales han desarrollado diversas adaptaciones para tolerar la sequía y las altas temperaturas (Rzedowski, 1978).

2.5.7. Usos comunes

A lo largo del territorio de México, el hojásén se utiliza en forma de infusión para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales (dolor de estómago, diarrea y disentería). También se emplea como purgante,

expectorante y antirreumático. Respecto a este último uso, las hojas de la planta son mezcladas con las de *Datura stramonium* en agua caliente (González, 1984; Martínez, 1989; Argueta *et al.*, 1994; Mata *et al.*, 2003; Bermúdez *et al.*, 2007). En los Estados Unidos de Norteamérica, las hojas y cabezas de flores de *F. cernua* se venden como un remedio para la indigestión (Tellez *et al.*, 2001). También es utilizada para cercas vivas y protección de cultivos, ocupada en el área rural para la construcción de techos y paredes (Vines, 1960) en lugares de engorda de ganado esta planta es considerado como maleza y hacen todo lo posible por erradicarla (Cavazos, 1984; Díaz, 1985), sin darse cuenta de su potencial en el uso de control de enfermedades, plagas y malezas agrícolas debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que contiene, lo que puede reducir poco a poco el uso de agroquímicos, así como disminuir los efectos adversos causados por el uso de estos compuestos sintéticos.

2.6. Efecto contra microorganismo fitopatógenos

Existen numerosos reportes con antecedentes promisorios que han demostrado efectos microbicidas del hojaseñ (*Flourensia cernua* DC.)

2.6.1. Efecto fungicida

Los extractos de las hojas de *Flourensia cernua* presentaron actividad fungicida *in vitro* con una concentración de 1,000 mg l⁻¹ sobre *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum* (Saeedi y Maldonado, 1982).

El uso de *F. cernua* en el cultivo de papa en el sureste del estado de Coahuila provocó inhibición sobre el complejo de hongos que ocasionan fusariosis (*Fusarium sp*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*), (Castro, 1985).

Tellez *et al.* (2001), extrajeron los componentes químicos de las hojas de *Flourensia cernua*; fraccionándolo mediante extracción sucesiva con hexano, éter dietílico y etanol. Cada fracción fue identificada mediante GC-MS. La fracción con hexano contenía principalmente monoterpenoides, mientras que los compuestos de etanol fueron principalmente sesquiterpenoides. La aplicación de tan solo 1 µg del aceite esencial derivado a partir del extracto crudo de hexano fue suficiente para proporcionar una actividad antifúngica visible contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum fragariae* y *Colletotrichum accutatum*, en cuanto a los aceites esenciales derivados de las fracciones de éter y etanol mostraron actividad antifúngica solo en dosis de 10 µg y por encima. Para el extracto etanólico solo se observó actividad antifúngica a 400 µg que fue la dosis más alta. El aceite esencial del extracto de hexano fue consistentemente más activo contra los hongos que el extracto en sí mismo, lo que sugiere que una buena parte de la actividad del aceite esencial reside en sus componentes volátiles.

Gamboa *et al.* (2003), extrajeron la resina de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Soxhlet, para evaluar su efecto en el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans in vitro*. Enseguida, las resinas de cada extracto se

disolvieron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, preparándose cinco dosis. Para cada patógeno, se incluyó el respectivo testigo químico en la dosis recomendada (tolclofos-metil y metalaxil). Los resultados expresados en porcentajes de inhibición fueron aceptables para los tres extractos sobre *R. solani*, mostrando un efecto fungistático hasta la dosis de 20,000 ppm. Para el caso *P. infestans* se obtuvieron valores altamente significativos, en donde el extracto de *O. majorana*, presentó un efecto fungicida a 8,000 ppm. Mientras que los extractos *F. cernua* y *B. ternifolia* mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas.

Cárdenas *et al.* (2005), obtuvieron extractos hexánico, clorofórmico y etanólico por percolación y por calentamiento a temperatura de ebullición y los extractos de hexano, cloroformo y metanol por maceración de *Casimiroa pringlei*, *Decatropis bicolor*, *Chrysactinia mexicana*, *Heliopsis longipes*, *Flourensia cernua*, y *Brickellia veronicaefolia*. Se probó la actividad antifúngica de cada uno de los extractos obtenidos sobre *Aspergillus flavus* Link. Observándose que solo en el caso de los extractos metanólico y etanólico de *Casimiroa pringlei*, *Decatropis bicolor*, *Chrysactinia mexicana*, y *Flourensia cernua* obtenidos por maceración se presentó un diámetro de inhibición menor de 20 mm.

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

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*. Los extractos de ajo, mango y hojásén tuvieron un importante efecto inhibitorio, aunque significativamente menor al de la canela y gobernadora sobre *R. solani*. Además con respecto a concentraciones y períodos de incubación, se observó que después de 72 h, el hojásén mantuvo el mismo efecto moderado en las concentraciones y al igual que el extracto de mango a la concentración de 5 % fue estadísticamente inferior al tiabendazol y resto de los extractos. Todos los extractos mostraron la tendencia a incrementar su efecto inhibitorio con el aumento de la concentración dentro del mismo período de incubación y a reducirlo al incrementar el período de incubación dentro de la misma concentración.

La aplicación *in vitro* del extracto etanólico de hojásén a 1,000 ppm inhibió el crecimiento micelial de *Alternaria alternata* 72.89 %, de *Colletotrichum gloesporioides* 69.98 % y de *Penicillium digitatum* 84.45 % (Sandoval, 2005). Así mismo la dosis de 2,000 ppm inhibió el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en un 95.9 % (Solís *et al.*, 2005).

Evaluaciones *in vitro* del efecto antifúngico de extractos de *Flourensia cernua*, demostraron que las dosis de 4,000 y 5,000 ppm inhibieron a *Colletotrichum gloesporioides* en 84.8 y 86.7 % respectivamente, *Alternaria alternata* 90.6 y 91.6 % respectivamente y *Rhizopus* sp. 90.6 y 91.6 % también respectivamente (Galván, 2005).

Guerrero *et al.* (2007), evaluaron el efecto de extractos de hojas frescas de *Flourensia cernua* sobre la inhibición micelial y esporulación de *Alternaria*

alternata, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum*. Los extractos se obtuvieron con metanol:cloroformo (1:1), y por extracción sucesiva con hexano, éter dietílico y etanol. Las concentraciones evaluadas fueron 500, 1,000, 2,000 y 4,000 mg L⁻¹ en medio de cultivo papa-dextrosa-agar. La inhibición micelial en *Alternaria alternata* fue mejor con las fracciones de hexano (91.9 %) y metanol:cloroformo (88.4 %) a 4,000mg L⁻¹, mientras que *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum* fueron inhibidos en un 93.4 y 94 %, respectivamente, a partir de 500 mg L⁻¹ de la fracción de etanol, en todos los casos el efecto fue fungistático. No se observaron conidios de *Alternaria alternata* con los extractos de etanol a 4,000 mg L⁻¹ y metanol:cloroformo a 2,000 y 4,000 mg L⁻¹. El extracto etanólico desde 2,000 mg L⁻¹ provocó la menor producción de conidios en *C. gloeosporioides*; los cuatro extractos provocaron disminución del número de conidios en *P. digitatum*, aunque no hubo diferencia estadística entre ellos. En general, el extracto etanólico fue el más eficiente para inhibir el micelio y afectar la producción de conidios de *C. gloeosporioides* y *P. digitatum*. Los espectros de FTIR de los extractos mostraron que las fracciones tienen los mismos grupos funcionales, pero en distinta proporción.

Ventura *et al.* (2006), reportaron que el extracto de *Flourensia cernua* fué eficaz contra algunos hongos importantes *Penicillium purpurogenum*, *Fusarium* spp., *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* y *Aspergillus flavus*.

Jasso de Rodríguez *et al.* (2007), analizaron la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de tres especies de *Flourensia*: *Flourensia cernua*,

Flourensia microphylla y *Flourensia retinophylla*, evaluadas en tres patógenos: *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Se observó inhibición de los patógenos con los extractos de las tres especies al aplicar una dosis de 10 $\mu\text{l L}^{-1}$, aunque la inhibición total se encontró con *Flourensia cernua* y *Flourensia retinophylla* a 1,000 $\mu\text{l L}^{-1}$ para *Rhizoctonia solani* y a la dosis de 1,500 $\mu\text{l L}^{-1}$ de extracto de las tres especies de *Flourensia* inhibió a los tres patógenos en estudio.

Castillo *et al.* (2010), reportaron efecto inhibitorio sobre *Rhizoctonia solani* a un 100 % con extracto de *Flourensia cernua* utilizando como disolvente manteca de cacao a una dosis de 1,000 ppm. Sin embargo utilizando la lanolina o el agua como disolvente de *Flourensia cernua* solo inhibió el micelio en un 73.2 y 94.2 % respectivamente.

De León *et al.* (2013), evaluaron la actividad antioxidante y la eficacia de los extractos acuosos fermentados de hojásén (*Flourensia cernua* DC) en la inhibición de dos hongos fitopatógenos (*Penicillium expansum* y *Fusarium oxysporum*). Se llevó a cabo la fermentación en estado sólido de las hojas de *Flourensia cernua* por *Aspergillus niger* GH1 con el fin de mejorar las actividades biológicas del extracto obtenido. Las condiciones del cultivo para los hongos fueron: humedad inicial de 60 %, pH = 5,5 y temperatura de 30 ° C durante 96 h. Los extractos acuosos se obtuvieron cada 12 horas durante el tiempo del cultivo. La actividad antioxidante se evaluó por el método de DPPH. El extracto acuoso de hojásén fermentado tenía la actividad antioxidante más alta a las 12 h, que era 63 % mayor que el control (sin fermentar el material). La

fermentación aumentó el efecto fungicida contra ambos microorganismos fitopatógenos a una concentración de 0.5 g L⁻¹. Este estudio demostró que la fermentación de las hojas de *Flourensia cernua* aumentó la actividad biológica del extracto acuoso contra *Penicillium expansum* y *Fusarium oxysporum*.

2.6.2. Efecto bactericida

Las mezclas de benzofuranos y benzopiranos de *Flourensia cernua* se ensayaron contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, hongos y *Saccharomyces* bajo dos condiciones experimentales; uno donde los medios inoculados se mantuvieron en la oscuridad y la otra donde los medios inoculados fueron irradiadas con luz UV (280-400 nm) durante 15 minutos antes de la incubación en la oscuridad. La bioactividad se incrementó en gran medida por la irradiación UV (Aregullin y Rodríguez, 1983; Towers *et al.*, 1975).

La fracción de éter dietílico del hojaseén mostró actividad selectiva contra la cianobacteria responsable del 2-methylisoborneol que induce un sabor desagradable a veces asociados con las empresas productoras de pez gato (bagre) (Tellez *et al.*, 2001).

Molina *et al.* (2006), evaluaron la actividad bactericida de extractos orgánicos contra la enfermedad de la tuberculosis de *Mycobacterium tuberculosis*. Las especies de plantas utilizadas fueron *Artemisia ludoviciana*, *Chenopodium ambrosioides*, *Marrubium vulgare*, *Mentha spicata* y *Flourensia cernua*, estas especies se utilizan en México para tratar desórdenes digestivos. Los extractos crudos acuosos obtenidos por la decocción utilizando metanol,

acetona y hexano de las partes aéreas de las plantas se evaluaron para conocer su habilidad de matar o inhibir el crecimiento *Mycobacterium tuberculosis* encontrando que *Flourensia cernua* fue extraordinariamente activa, los extractos de hexano y acetona no sólo inhibieron el crecimiento sino que mataron a la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*.

Se evaluó el extracto de hojasén obtenido con hexano, éter, etanol, y la mezcla de metanol-cloroformo, a diferentes dosis, contra *Pseudomonas cichorii* (PC), *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (XAP), y *Pectobacterium caratovora* subsp. *atroseptic* (PCA). Todos los extractos mostraron actividad en XAP y PC, sin embargo, ninguno de ellos mostró ningún efecto de inhibición cuando se evaluó en PCA. El extracto hexánico de *F. cernua* a una dosis de 4,000 ppm ($P \leq 0,05$) mostró la mayor inhibición sobre XAP (82.51 %) y PC (83.96 %) (Peralta, 2006).

Castillo (2008), reportó que los extractos de gobernadora, sangre de dragón, cáscara de nuez y hojasén inhiben el crecimiento de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*, hasta el 60 % y 50 % respectivamente.

Méndez *et al.* (2012), evaluaron la actividad antibacteriana de extractos de plantas del semi-desierto contra *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus*. Las plantas que utilizaron fueron *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca filifera*, *Opuntia ficus-indica*, y *Carya illinoensis*. Obteniendo como mejor extracto el de *Larrea tridentata* ya que inhibió a un 80 % el crecimiento bacteriano y siguiéndole *Flourensia cernua* con más del 75 %.

2.6.3. Efecto insecticida

La actividad insecticida del benzofurano 7-metoxi-2-isopropenil-5-acetil-2, 3-dihidrobenzofurano-3-ol-cinamato mostró actividad como hormona juvenil causando malformación anatómica, la retención de características juveniles y esterilidad en los insectos tratados desde su segunda a cuarta etapas de desarrollo (Towers *et al.*, 1975). Los resultados fueron similares a los reportados por Bowers (1971) con precoceno.

Se llevó a cabo la evaluación de la actividad bioinsecticida de extractos crudos de *Flourensia cernua* sobre tres plagas de insectos de importancia agronómica: *Sitophilus oryzae* (Linneo), *Phthorimaea operculella* (Zeller), y *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus), así como el efecto repelente o atractivo para *Sitophilus oryzae* (Linnaeus). El extracto que presentó efecto insecticida potencial contra *Brevicoryne brassicae* fue el hexánico con una mortalidad del 100 % a una concentración de 10,000 $\mu\text{l L}^{-1}$ ($P \leq 0.05$) a las 24 h. Además, la fracción de hexano mostró efecto insecticida al promover repelencia contra *Sitophilus oryzae* a los 5 y 45 días tanto en sacos de rafia como en los sacos de yute. El efecto de repelencia incitado por la fracción de hexano puede ser debido a las sustancias volátiles de borneol y alcanfor que contiene el hojásén (Martínez, 2006).

Tellez *et al.* (2001), evaluaron los componentes químicos de hojásén extraídos con distintos solventes (hexano, éter dietílico y etanol) para conocer su actividad insecticida contra las termitas, obteniendo como resultado un alto grado de actividad con los tres extractos crudos. La fracción de etanol probada

en la concentración de 958 mg fue la más alta, no hubo sobrevivientes (100 termitas en cada repetición). El extracto de hexano fue probado en la concentración más baja (189 mg) pero también presentó una eliminación casi completa (2.3 % de supervivencia); no hubo sobrevivientes en dos de las repeticiones y sólo siete sobrevivientes en la tercera repetición. La fracción de éter dietílico donde se utilizó una concentración de 405 mg (dosis media) tuvo 15.7 % de supervivencia (0, 35, y 12 supervivientes en cada repetición). La supervivencia del grupo de control con un blanco de acetona fue del 82 %. Las propiedades antitermitas de las diferentes fracciones de *Flourensia cernua* indican la presencia de más de un compuesto activo (o un conjunto de compuestos).

2.6.4. Efecto fitotóxico

La planta de hojasén no solo contiene compuestos químicos fungicidas. Mata *et al.* (2003) demostraron que *Flourensia cernua* por sus compuestos químicos también inhibe el crecimiento de otras plantas como el *Amaranthus hypocondriacus* y *Echinochloa crusgalli*. Además reporta una inhibición significativa del crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*.

2.6.5. Efecto citotóxico

Los benzopiranos y benzofuranos puros de *Flourensia cernua* se han estudiado para la actividad citotóxica, usando células rojas de la sangre y la medición de la hemoglobina liberada en la destrucción celular. Los benzopiranos fueron más activos que los benzofuranos aunque hay una clara

correlación entre la actividad y la estructura que se ha obtenido. Estos compuestos además fueron irradiados con luz UV mostrando una mayor actividad citotóxica que los no irradiados (Towers *et al.*, 1980). Los benzopiranos y benzofuranos reaccionan con L-cisteína (Towers *et al.*, 1979) y la actividad citotóxica y microbicida se pueden asociar con la capacidad de la formación de alquilo. Los extractos crudos y sus fracciones son citotóxicos contra cinco líneas celulares de cáncer de mama humano (Molina *et al.*, 2006).

Zavala *et al.* (2010) evaluaron la toxicidad aguda del extracto de *Flourensia cernua*. Para ello se utilizó el método alternativo Procedimiento de Dosis Fijas (FDP, por sus siglas en inglés). El extracto de hojas se administró por vía oral a un grupo de cinco ratas Wistar a dosis única de 2,000 mg kg⁻¹ de peso corporal; un grupo control fue tratado con cloruro de sodio (NaCl) al 0.85 %. Aunque hubo signos de toxicidad leve en el grupo problema, no hubo mortalidad en los animales, ni el peso corporal cambió y los estudios anatomopatológicos macroscópicos no mostraron alteraciones en los órganos estudiados. La DL₅₀ del extracto se encontró por encima de 2,000 mg kg⁻¹.

2.6.6. Efecto Antioxidante

Salazar *et al.* (2008), llevaron a cabo un estudio con el fin de evaluar el potencial antioxidante de seis especies del noreste de México, analizando las hojas, tallos, raíces y flores de *Flourensia cernua*. Los resultados mostraron que poseen actividad antioxidante todas las partes analizadas lo cual se atribuye al

contenido de compuestos fenólicos que contienen. Los tallos y las raíces de esta especie reportaron el mayor contenido de compuestos fenólicos.

2.7. Estudios fitoquímicos

El género *Flourensia* es importante debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que posee, los cuales son ampliamente utilizados. Se han reportado nueve especies de *Flourensia*, siendo *Flourensia cernua* la que tiene el mayor número de compuestos químicos (Aregullín y Rodríguez, 1983). El hecho de que estos metabolitos secundarios no están presentes en otras especies, dio lugar a una correlación entre la distribución ecográfica y una posible adaptación química con el medio ambiente (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2012).

La extracción de compuestos activos se llevó a cabo utilizando diferentes solventes como hexano, éter dietílico y etanol (Kingston *et al.*, 1971; Pettersen *et al.*, 1975; Tellez *et al.*, 2001). Guerrero *et al.* (2007), analizaron por espectroscopía de infrarrojo los extractos de hojas obtenidos con distintos solventes (metanol:cloroformo, hexano, éter dietílico y etanol), reportando que los cuatro extractos presentan los mismos grupos funcionales de hidroxilos, alquenos, aromáticos, aminas y aldehídos. Jasso de Rodríguez *et al.* (2007), reportaron que los espectros de infrarrojo de los extractos de *Flourensia* de tres especies, entre ellas, presentaron los grupos hidroxilo, éster y carboxilo.

Estudios fitoquímicos de hojas han dado como resultado el aislamiento y la caracterización de varios flavonoides (Rao *et al.*, 1970; Dillon *et al.*, 1976;

Wollenweber y Dietz, 1981) sesquiterpenoides (Kingston *et al.*, 1971; Pettersen *et al.*, 1975; Estell *et al.*, 1994; Tellez *et al.*, 1997, 2001), monoterpenoides (Estell *et al.*, 1994; Tellez *et al.*, 1997, 2001), acetilenos, p-acetofenonas, benzopiranos y benzofuranos (Bohlmann y Grenz, 1977; Aregullin y Rodríguez, 1983).

Tellez *et al.* (1997) llevaron a cabo un estudio fitoquímico en *Flourensia cernua* y reportaron que contiene un aceite esencial en el extracto hexánico en la proporción de 0.864 % (Vines 1960; Beltrán, 1964), cuyos componentes fueron analizados usando índices de retención y GC-MS donde pudieron identificar 89 componentes. Los principales componentes son β -eudesmol (24.5 %), α -eudesmol (6.9 %), limoneno (6.6 %), γ -eudesmol (4.6 %), mirceno (3.8 %), borneol (3.3 %), δ -3-carene (3.0 %). Algunos flavonoides presentes son Cirsimaritin, hispidulin (Rao *et al.*, 1970), 6,8-di-C-glycosylflavones, 3-O-methylquercetin, 3,7-di-O-methylkaempferol (Dillon *et al.*, 1976), 5,7-dihydroxyflavanone, methyl ethers of galeatin, kaempferol y quercetagenin (Dillon y Mabry, 1977).

El aceite esencial de *Flourensia cernua* es más activo contra hongos que el propio extracto, lo que sugiere que una buena parte de la actividad en el extracto hexánico reside en sus componentes volátiles del destilado. Varios de los principales componentes volátiles como α -pineno (2.0 %), 3- β -careno (12.6 %), limoneno (27.7 %) (Himejima *et al.*, 1992), y β -eudesmol (11.3 %) (Miyakado *et al.*, 1976) presentaron actividad antifúngica. Otro componente

importante que permite mejorar la actividad antimicrobiana es el mirceno el cual se encuentra presente en hojásén (19.9 %) (Onawunmi *et al.*, 1984).

Los principales componentes que se identificaron en el extracto etanólico de las hojas de *Flourensia cernua* fueron, flourensadiol (44.6 %), alcohol de artemisia (5.5 %), viridiflorol (2.7 %) y borneol (2.0 %) (Tellez *et al.*, 1997). Wall *et al.* (1961), encontraron escasas cantidades de alcaloides en hojas, ramas y flores. Jones y Earle (1966) reportaron que las semillas de hojásén, contiene 16.25 % de proteína, 6.6% de aceite además de la presencia de taninos.

Tellez *et al.* (2001) realizaron análisis químicos por GC-MS (cromatografía de gases–espectrometría de masas) de los extractos de hojásén obtenidos con distintos solventes (hexano, éter y etanol). Los resultados mostraron marcadamente diferencias entre los perfiles volátiles para las tres fracciones crudas evaluadas. Cuarenta y un compuestos volátiles se identificaron en la fracción de hexano, que representa más del 91.3% de la composición de los compuestos volátiles en el extracto. Cuarenta y siete compuestos volátiles se identificaron en la fracción de éter, que representa más del 84.7 % de la composición de los compuestos volátiles en el extracto, identificándose tentativamente δ -selineno (5.8 %) por masas (MS). Catorce compuestos volátiles se identificaron en la fracción de etanol, que representa más del 79.3 % de la composición de los compuestos volátiles en el extracto y fueron identificados tentativamente por masas δ -selineno (8.7 %) y 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno-1-ol (4.5 %).

Los compuestos volátiles en el extracto de hexano consistían en una alta proporción de monoterpenos, identificando 27 monoterpenos los cuales representan el 74.7 %. Este mismo extracto contiene una baja proporción de sesquiterpenoides, como β -eudesmol que representa el 11.3 %, y los 13 restantes representan el 4.9 %. Los principales monoterpenoides fueron mirceno (19.9 %), 3- δ -careno (12.6 %) y limoneno (27.7 %).

Los compuestos volátiles identificados en el extracto de éter consistían en una mezcla de monoterpenos (24.9 %) y sesquiterpenos (57.0 %), con una marcada disminución en la proporción de β -eudesmol (2.8 %). Los componentes principales incluyen mirceno (6.7 %), 3- δ -careno (6.1 %), limoneno (8.4 %), β -cariofileno (16.0 %), α -humuleno (5.0 %), y germacreno D (24.0 %).

Por último, el perfil volátil del extracto etanólico era casi completamente carente de monoterpenos (0.2 %) y consistía casi exclusivamente de sesquiterpenos, con los sesquiterpenos identificados representaba el 79.1 %. Los principales componentes incluyen β -cariofileno (14.3 %), α -humuleno (6.9 %) y germacreno D (43.3 %).

El fraccionamiento del extracto CH_2Cl_2 -MeOH (1:1) de las partes aéreas de hojaseén condujo al aislamiento de tres compuestos fitotóxicos, ácido dehydroflourensico (Mata *et al.*, 2003), flourensadiol (Kingston *et al.*, 1971) y metil orsellinate (Witiak *et al.*, 1967). El ácido dehydroflourensico es un nuevo producto natural cuya estructura fue establecida por comparación de su

información espectral con valores reportados en la literatura. Además el flavonoide conocido como ermanin (Domínguez *et al.*, 1973) y siete nuevas γ -lactonas: tetracosan-4-olide, pentacosan-4-olide, hexacosan-4-olide, heptacosan-4-olide, octacosan-4-olide, nonacosan-4-olide, y triacontan-4-olide (Mata *et al.*, 2003). (Figura 5). También hay hidrocarburos de cadena larga a partir de tetracosano 4-olida a triacontano-4-olida y lactonas (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007)

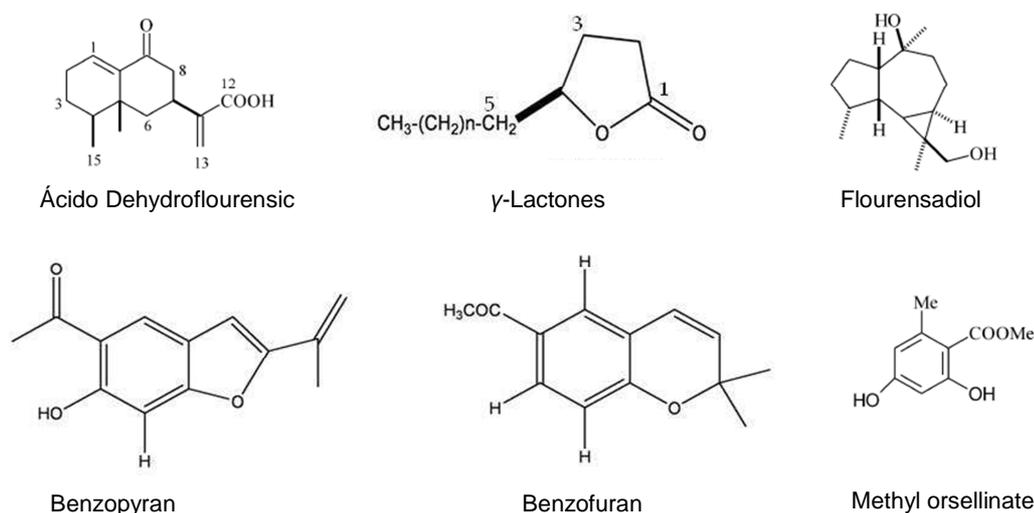


Figura 5. Componentes fitoquímicos identificados en *Flourensia cernua* DC

Fredrickson *et al.* (2007) determinaron los compuestos volátiles de la superficie foliar intacta y rebrote de hojasén, obteniendo como resultado 87 compuestos presentes. Donde 35 fueron mayores en las muestras intactas de la copa y 16 fueron mayores en las muestras de rebrote. Los componentes más grandes ($>100 \mu\text{g g}^{-1}$ de materia seca) fueron flourensadiol, desconocido # 1, alcohol artemisia, borneol, β -eudesmol, y desconocido # 4 para la superficie

foliar intacta, y flourensadiol, desconocido # 7, desconocido # 6, alcohol artemisia, desconocido # 5, y β -eudesmol de los rebrotes. La concentración media de los componentes volátiles totales en las hojas de las copas tendió a ser menor que la de rebrote (3.642 vs 4.684 $\mu\text{g g}^{-1}$ de MS). En el análisis se distinguieron, nueve compuestos (α -muurolene, iso-borneol, desconocido # 6, p-cymen-8-ol, desconocido # 7, sabineno, β -cariofileno, δ -cadineno y α -copaeno) exponen casi el 95 % de la variación entre la copa y el rebrote de las muestras, y α -muurolene representan casi el 65% de la variación. Este subgrupo se compone principalmente de compuestos en concentraciones bajas (<20 $\mu\text{g g}^{-1}$ de materia seca) con la excepción de los desconocidos # 6 y # 7.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Colecta y preparación de material biológico

El muestreo de las plantas de *Flourensia cernua* DC se llevó a cabo en un sitio con gran abundancia de arbustos en el Ejido Guadalupe Victoria, Municipio de Saltillo, Coahuila, México, por la carretera federal 54 Saltillo-Zacatecas (Latitud 25° 06' 10.81" N y Longitud 101° 06' 42.99" O, a una altitud de 2,054 msnm) en las fechas 28 de Marzo, 12 de Junio y 28 de agosto del 2012 (Figura 6), siendo identificadas por el Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla del Departamento de Botánica de la UAAAN.

Las plantas muestreadas fueron de 50 a 60 cm de altura, con un diámetro de tallos de 2-3 cm, de las cuales se cortaron ramas de 10 a 12 cm de largo con la mayor cantidad de hojas. El material cortado se depositó en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio de Fitoquímica de la Universidad y se almacenaron en un cuarto frío (4-6 °C) para su procesamiento.

Las hojas se separaron manualmente de los tallos y se secaron en una estufa (Lab-Line Imperial II Incubator) a 60 °C durante 24 h. A continuación las hojas se molieron en una licuadora convencional para alimentos (Oster®).

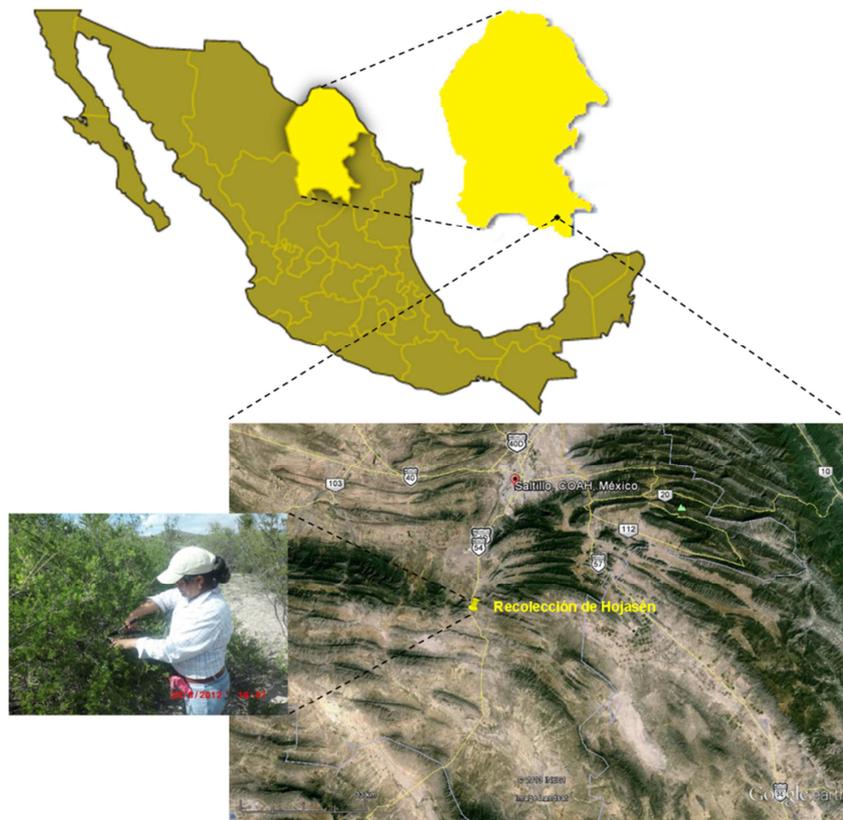


Figura 6. Recolección de *Flourensia cernua* DC

3.2. Obtención del extracto y preparación de las soluciones de diferente concentración

El procedimiento que se llevó a cabo para la obtención de la resina es un método desarrollado en el laboratorio de Fitoquímica de la UAAAN y modificado para obtener mayor concentración de producto. A las hojas molidas se les agregó el disolvente (Etanol, grado reactivo). La mezcla se agitó mecánicamente a temperatura ambiente. Al término de las extracciones la resina fue separada del disolvente en un rotavapor (Buchii R-200, Heating Bath B-490) y se determinó el rendimiento de la resina gravimétricamente.

Para la preparación de las soluciones a diferentes concentraciones utilizadas en el experimento (T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm) se partió de una solución madre preparada con extracto etanólico de *Flourensia cernua*.

3.3. Obtención del inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

El inóculo se obtuvo mediante arrastre de esporas de cultivos de *F. oxysporum* de 15 días de crecimiento en matraces Erlenmeyer con agar Papa Dextrosa (PDA), se agitó mecánicamente a 150 rpm en un agitador (Corning stirrer/Hot Plate model PC-420) durante 3 ± 5 minutos a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (Figura 7). Posteriormente se realizó un conteo de esporas por medio de un hematocímetro obteniendo $9.85 \cdot 10^6$ esporas ml⁻¹. Al final se diluyó con 2 L de agua destilada estéril para obtener una concentración de $1.7 \cdot 10^6$ esporas ml⁻¹.



Figura 7. Preparación de la suspensión de esporas

3.4. Establecimiento del experimento

3.4.1. Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero, el cual se encuentra ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se localiza a 7 km al sureste de la ciudad de Saltillo con una latitud de 25° 21' 10.66" N, longitud 101° 01' 38.17" O y altitud de 1,781 msnm (Figura 8). El experimento se realizó durante el ciclo Primavera-Verano del 2013.

De acuerdo a la clasificación climática de Köppen, modificada por García (1973) el clima de Saltillo pertenece a un seco estepario. El clima de la región es extremo, seco semicálido, que corresponde a las zonas semiáridas del norte de México, presenta una temperatura media anual de 19.8 °C y una mínima de hasta -10 °C. La evaporación promedio mensual es de 178 mm, presentándose las más altas en los meses de mayo y junio con 236 y 234 mm respectivamente. La precipitación media anual es de 350-400 mm aunque en los últimos años del 2011 al 2012 la precipitación ha sido 293 mm la cual comprende entre los meses de julio y septiembre (INIFAP, 2013).



Figura 8. Localización del Invernadero donde se estableció el experimento de tomate

3.4.2. Preparación del sustrato

Se utilizó una mezcla de peetmoos, perlita y suelo previamente esterilizado con Bromuro de Metilo en una relación 1:1:1. Posteriormente se llenaron macetas de 5 galones identificadas previamente.

3.4.3. Material vegetativo

Para este ensayo se emplearon plántulas de tomate variedad Saladette P-083-SVA de ciclo determinado sembradas el 29 de marzo del 2013 bajo

condiciones de invernadero (Villa de Arista, S.L.P.) en charolas de poliestireno de 200 cavidades, con sustrato peat-moos. Las características de esta línea genética es que es resistente a *Verticillium albo-atrum*, *Fusarium oxysporum* (resistencia a raza 1 y raza 2 más no a la raza 3 de *Fusarium*), nemátodos, *Estemphylium solani* y peca bacterina.

3.4.4. Diseño experimental

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con 6 tratamientos, y dos testigos (T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm) y 10 repeticiones (una planta por cada repetición). El análisis de varianza de los datos se realizó con el programa estadístico Language R (2012), las comparaciones de medias de los tratamientos fue mediante la prueba diferencia mínima significativa (DMS) a un nivel de confianza de 0.05.

3.4.5. Inoculación y trasplante

A los 36 días después de la siembra las plántulas fueron inoculadas por inmersión de raíces en una suspensión de esporas de *Fol* a una concentración $1.7 \cdot 10^6$ esporas ml⁻¹ (Apodaca *et al.*, 2002; Jiménez *et al.*, 2005), para llevar acabo la inoculación se realizó previamente un corte en el cepellón (Figura 9). Posteriormente se procedió a efectuar el trasplante el día 4 de mayo del 2013 en las macetas con el sustrato previamente humedecido.



Figura 9. Inoculación de plántulas de tomate

3.5. Manejo del cultivo

3.5.1. Aplicación del extracto de *Flourensia cernua*

Las plantas se mantuvieron en el invernadero durante 100 días después del trasplante (DDT) a una temperatura promedio de 26 °C, con temperatura máxima de 32 °C y mínima de 20 °C. Se prepararon 10 L de cada solución a las diferentes concentraciones a evaluar del extracto etanólico de hojasén.

Se realizaron cuatro aplicaciones del extracto directamente al sustrato junto al área radicular una al trasplante (Figura 10) y tres posteriores a los 10, 20 y 40 DDT; empleando 100, 100, 300 y 300 ml de la solución,

respectivamente en cada fecha, proporcionando finalmente 800 ml del extracto etanólico de *Flourensia cernua* a cada planta.



Figura 10. Aplicación del extracto

3.5.2. Riego

El riego se efectuó por un sistema de goteo (Figura 11), aplicando riegos de acuerdo a la ET_{real} que se estimó usando la evaporación de una bandeja modificada, cuyos valores fueron corregidos por un coeficiente de bandeja local y el coeficiente del cultivo del tomate (Ortega *et al.*, 2001) y de esta manera aportar el requerimiento hídrico necesario para el cultivo.

La ET_{real} del tomate fue calculada utilizando la siguiente relación

$$ET_{real} = EBM \cdot K_r \cdot K_c$$

Donde:

EBM= evaporación de bandeja modificada (mm d^{-1})

K_r = coeficiente de bandeja local (0.9)

K_c = coeficiente del cultivo



Figura 11. Sistema de riego por goteo

3.5.3. Fertilización

La fertilización se aplicó de acuerdo a la solución descrita por Steiner (1973), que consiste en restar los aniones y cationes detectados con base al análisis de agua. Al momento de preparar la solución se ajustó el pH del agua a 5.5 mediante la adición de ácido sulfúrico al 98 % ($66 \text{ mL } 1,100 \text{ L agua}^{-1}$), actividad que es indispensable para evitar precipitados y eliminar la mayor parte

de bicarbonatos presentes. Se preparó la solución nutritiva por cantidades de 1,100 L de solución.

3.5.4. Entutorado

Con el objetivo de guiar a la planta de tomate con un solo tallo y mantener el tallo de la planta de tomate en una posición erguida y lograr un mejor manejo sanitario se realizó el entutorado a los 25 DDT instalando estacas (Figura 12). Se colocó en la parte superior de las estacas cordones de rafia amarrados sobre el cuello de la planta (debajo de la primera hoja), conforme se iba desarrollando la planta, la rafia se va enredando alrededor del tallo.



Figura 12. Entutorado en plantas de tomate

3.5.5. Poda de tallos y hojas

Se efectuó la poda de axilares, con la finalidad de mantener la planta a un solo tallo se realizó esta práctica, tratando siempre que se eliminaran en el estado mas tierno de los brotes para evitar daños en la planta, la finalidad es evitar competencia con el tallo principal. La poda de las hojas senescentes se realizo para evitar que esas hojas se vuelvan parásitas, ya que en este estado dejan de producir fotosintatos. En esta poda se eliminaron las hojas bajas hasta donde se encontró el primer racimo, (de abajo hacia arriba) en producción a lo largo del ciclo (Figura 13). Con la poda de hoja se logra una mayor ventilación para tener menos enfermedades, se mejora y uniformiza la coloración de los frutos.



Figura 13. Poda en plantas de tomate

3.5.6. Control de plagas y enfermedades

Para determinar la presencia y control de plagas y enfermedades se realizaron observaciones diarias (Figura 14). Las plagas que se presentaron

fueron mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y Pariatroza (*Pariatroza cockerelli*) para ello se aplicó Confidel 350SC, Agrimy QÚ® y como adherente INEX-A®, definiendo las aplicaciones en función de la presencia de las mismas.



Figura 14. Monitoreo diario para el control de plagas y enfermedades

3.6. Variables evaluadas en planta

Para determinar el daño ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) en las plantas de tomate se evaluó severidad e incidencia de la enfermedad, además se midieron las variables de crecimiento durante el desarrollo del cultivo, tales como: altura de la planta y diámetro de tallo a la vez se efectuaron observaciones de las raíces en fresco y se obtuvo el peso seco de las mismas.

3.6.1. Severidad

Esta variable se determinó de acuerdo a la escala propuesta por Engelhard (1986) que establece un rango de 0 a 5 (0= ningún síntoma visible en hojas, 1= clorosis o decoloración vascular en 1 ó más hojas, 2= clorosis ó decoloración vascular o ambas, daño en hojas ó vástago ó ambos, 3= síntoma de las hojas marchitas, 4= síntoma de hoja marchita y crecimiento limitado de la planta y 5= muerte de la planta), que se relaciona con síntomas necróticos en hojas; haces vasculares dañados del tallo, síntomas de hojas marchitas, retraso del crecimiento y muerte de la planta (Figura 15).



Figura 15. Sintomatología de la enfermedad ocasionada por *F. oxysporum* (Izquierda T₅R₇, Derecha T₂R₇)

3.6.2. Incidencia

Se evalúa por la marchitez de la planta el criterio es visual se toma en cuenta el número asignado en la severidad, es decir, cuales están presentando la enfermedad en la evaluación de esa variable se observaron las plantas por tratamiento y se les asigno el número de la escala según presentaron la enfermedad, posteriormente se contabilizaron cuantas de las 10 repeticiones estuvieron sanas. La incidencia que es el porcentaje de plantas enfermas se determino por medio de la siguiente fórmula:

$$IE (\%) = \frac{\text{No. plantas enfermas} - \text{No. plantas sanas}}{\text{No. total de plantas}} * 100$$

Donde: IE = Incidencia

3.6.3. Peso seco de raíces

Las raíces se lavaron cuidadosamente después de la cosecha de plantas, con el fin de quitar toda presencia del sustrato se colocaron sobre papel filtro para realizar comparaciones entre los tratamientos con los testigos, y se tomaron fotografías. Se dejaron secar por un periodo aproximado de 48 h en una estufa de secado a 60 °C (Modelo HDT-18 Convección Mecánica), transcurrido ese tiempo se pesaron en una báscula digital modelo Scout Pro SP6000 marca OHAUS con capacidad máxima de 6,000 g.

3.6.4. Altura de planta (cm)

Para esta variable se midieron todas las repeticiones de los tratamientos, y se tomó en cuenta para la medición desde la superficie del sustrato hasta el

punto de abscisión de la última hoja emergida. La primera evaluación se realizó a los 10 DDT, a partir de esta fecha la variable fue evaluada cada siete días durante el ciclo del cultivo, con cinta métrica con capacidad para medir 2 metros (Figura 16).



Figura 16. Medición de altura en planta de tomate

3.6.5. Diámetro de tallo (mm)

Al igual que en la altura de la planta se realizaron las mediciones cada siete días en todas las repeticiones de los tratamientos con la ayuda de un Vernier digital escala 0 a 10 cm con resolución de décima de mm, se tomó el tallo e 1 cm del sustrato y se procedió a ajustar el vernier al tallo y finalmente se tomaba la lectura (Figura 17).



Figura 17. Medición de diámetro en el tallo de la planta

3.7. Variables evaluadas en la planta después de la cosecha

Las variables de crecimiento en el desarrollo de la planta que fueron evaluadas al final del ciclo del cultivo (100 DDT) fueron: peso fresco y seco total de la planta, hojas, tallos y número de hojas, nudos y entrenudos.

3.7.1. Peso fresco total de la planta

Para la realización de esta variable se cortaron las plantas desde el cuello que divide a esta de la raíz, se pesaron inmediatamente en una báscula digital modelo Scout pro SP6000, marca OHAUS.

3.7.2. Peso fresco de hojas

Después de cortar todos los folíolos se pesaron las hojas en una báscula digital modelo Scout pro SP6000, marca OHAUS.

3.7.3. Peso fresco de tallos

El tallo sin hojas se cortó en segmentos para posteriormente pesarlo en una balanza digital modelo modelo Scout pro SP6000, marca OHAUS.

3.7.4. Peso seco total de la planta

Para obtener esta variable se realizó la sumatoria de los pesos secos de las hojas y tallos.

3.7.5. Peso seco de hojas

Posteriormente los folíolos se introdujeron en una bolsa de papael que se colocó en una estufa de secado marca MAPSA modelo HPT 18, a una temperatura de 60 °C por un tiempo aproximado de 48 h, después de este tiempo se sacó la muestra contenida en la bolsa y se pesó la materia seca de las hojas, en una balanza digital modelo modelo Scout pro SP6000, marca OHAUS, capacidad máxima 6000 g y finalmente se tomó la lectura en gramos.

3.7.6. Peso seco de tallos

En esta variable el tallo fue cortado en segmentos y después los tallos se introdujeron en una bolsa de papel, que se colocó en una estufa de secado marca MAPSA modelo HPT 18 a una temperatura de 60 °C por un tiempo aproximado de 48 h, después de este tiempo se sacó la muestra contenida en la bolsa y se pesó la materia seca de tallo en una balanza digital modelo modelo Scout pro SP6000, marca OHAUS, capacidad máxima 6000 g y finalmente se tomó la lectura en gramos.

3.7.7. Numero de hojas

Antes de efectuar el corte de los foliolos, se contabilizo el número total de hojas en toda la planta.

3.7.8. Número de nudos y entrenudos

Despues de desprender todas las hojas, se procedió a contar el total de nudos y entrenudos del tallo.

3.7.9. Número y peso fresco de frutos

Los frutos obtenidos en cada corte se contabilizaban y pesaban en una báscula digital modelo Scout Pro SP6000 marca OHAUS.

3.8. Variables evaluadas en el fruto

Las pruebas de calidad de fruto se realizaron en el laboratorio, donde se analizaron las variables de calidad externa e interna. La calidad externa se midió a través del diámetro polar y ecuatorial. La calidad interna se midió a través de firmeza, pH del fruto, sólidos solubles totales y vitamina C.

3.8.1. Variables de calidad externa del fruto

La cosecha de frutos se realizo manualmente a partir de los 67 DDT, haciendo dos o tres cortes por semana siendo recolectados en bolsas de papel previamente identificadas de acuerdo al número de repetición y tratamiento.

3.8.1.1. Diámetro ecuatorial

Con la ayuda de un Vernier digital escala 0 a 10 cm con resolución de décima de mm se midió la distancia entre las dos partes centrales de las dos caras del tomate, es decir, la longitud transversal medida perpendicularmente.

3.8.1.2. Diámetro polar

Para el diámetro polar se midió la distancia entre el pedúnculo y el ápice del fruto con un Vernier digital escala 0 a 10 cm con resolución de décima de mm.

3.8.2. Variables de calidad interna del fruto

Para determinar las siguientes variables se tomaron al azar 32 tomates en total por el experimento.

3.8.2.1. Firmeza

La firmeza de los frutos es un parámetro que mide la resistencia de penetración de los tejidos del fruto. Este es un factor importante, ya que la firmeza está relacionada con los frutos sanos, la concentración de azúcar, pH, sabor y aroma del fruto. Este parámetro se puede medir con pruebas destructivas que miden la resistencia que tiene al penetrar la corteza del tomate e introducirse a la pulpa. Se utilizó una puntilla de 8 mm con un instrumento llamado penetrómetro. El procedimiento consta de perforar la corteza del tomate e introducirlo hasta la pulpa ejerciendo una presión y obteniendo una lectura en kg· F.

3.8.2.2. Potencial de hidrógeno

El pH es más que una escala que nos permite medir el grado de acidez o alcalinidad de las disoluciones, es una medida de la cantidad de iones hidrógeno (H) presentes en una disolución. Una de las formas más usadas de medir la acidez de cualquier medio, es utilizar la escala pH. El pH comprendido entre 1 y 6 es ácido, el pH 7 es neutro, y el pH comprendido entre 8 y 14 es alcalino o básico.

Para la medición de esta variable se utilizó un potenciómetro previamente calibrado marca Conductronic modelo pH 10. Se introdujo el electrodo en la herida que ocasiono el penetrómetro y de esta manera poder tomar la lectura del potencial de hidrógeno.

3.8.2.3. Contenido de sólidos solubles totales

Los grados Brix (°B) miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido. Los sólidos solubles totales se midieron con un refractómetro de marca ATAGO modelo N-2E rango de 0-32 % °Brix, en el cual se colocaron unas gotas del jugo de tomate para poder tomar la lectura.

3.8.2.4. Vitamina C

Se pesaron 20 g de cada muestra, y se le agregó 10 ml de ácido clorhídrico al 2%, después se agregó 100 ml de agua destilada hasta homogenizar. Una vez agitada la muestra se filtró el contenido, de esta muestra se tomaron 10 ml que se colocó en un matraz Erlenmeyer. Por último, se procedió a titular con el reactivo de Thielman, hasta obtener la coloración rosa

permanente, tomando la cantidad de reactivo requerido y se determino el contenido de vitamina C mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de Vitamina C} = \frac{\text{ml de reactivo Thielman gastados}}{VA * P} * 0.088 * VT * 100$$

Donde:

0.088= Miligramos de ácido ascórbico equivalente en 1 ml de reactivo de Thielman.

VT= Volumen total en ml del filtrado de vitamina C en HCl

VA= Volumen en ml de la alícuota valorada

P= Peso de la muestra en gramos

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Rendimiento de resina

El rendimiento de la resina que se obtuvo de las hojas de *Flourensia cernua* en etanol fue de 14.65 % logrando mayores rendimientos a los reportados por Cárdenas *et al.* (2005) donde utilizaron distintos métodos de extracción con el mismo solvente y por Guerrero *et al.* (2007) quienes reportaron el 8.2 % de rendimiento para la misma especie.

4.2. Efecto del extracto de *Flourensia cernua* DC. en la evaluación de las plantas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* durante el ciclo del cultivo

4.2.1. Severidad e Incidencia

La evaluación de incidencia y severidad se realizó en la cosecha a los 100 DDT. En todos los tratamientos se encontró presencia del patógeno, pero se detectaron diferencias entre los valores medios de estos.

Los resultados mostraron diferencia significativa ($P < 0.01$) entre los tratamientos siendo el mejor tratamiento la concentración de 500 ppm del extracto de *Flourensia cernua* (EFC) ya que en comparación con los demás tratamientos excepto el testigo absoluto (T_1) presentó menor incidencia (50 %) y severidad (1.9) ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol),

siguiéndole las concentraciones de 100 y 300 ppm (T₃ y T₄, respectivamente) (Figura 18).

Para el testigo absoluto que fue aquel que no se inoculó con el patógeno presentó incidencia y severidad de la enfermedad pero en menor grado. Lo anterior puede atribuirse a que pudo contaminarse en el transcurso del experimento. En cuanto a las concentraciones altas evaluadas (T₆= 1,000 ppm, T₇= 1,500 ppm y T₈=2,000 ppm) junto con el testigo inoculado (T₂) la incidencia de la enfermedad se presentó en más de un 90 %. Los resultados del presente estudio superan a los reportados por Díaz *et al.* (2013) quienes evaluaron el efecto de extractos fermentados y no fermentados de *Larrea tridentata* y *Flourensia cernua* sobre la inhibición micelial de *Phytophthora capsici* en planta de tomate mantenidas durante 30 días después del trasplante (DDT) en cámara bioclimática. Los reportes de incidencia y severidad a los 60 DDT para los extractos fermentados, soxhlet, *F. cernua* y acetona (FSHA) y sonicado, *F. cernua* y metanol (FSOHM) a 4,000 ppm fueron de 100 % y entre 87.5 % y 91.6 % respectivamente, mientras que en este estudio la concentración de 500 ppm del extracto crudo de *F. cernua* en etanol reportó control sobre *F. oxysporum* con valores más bajos de incidencia y severidad (50 % y 1.5, respectivamente).

Estudios relacionados por Dayan y Tellez (1999); Estell *et al.* (2001); Tellez *et al.* (2001), reportan que los extractos crudos y fracciones de *Flourensia cernua* poseen actividades fitotóxicas, antifúngica, antialga y antitermita y reduce el consumo de pelets de alfalfa por las ovejas.

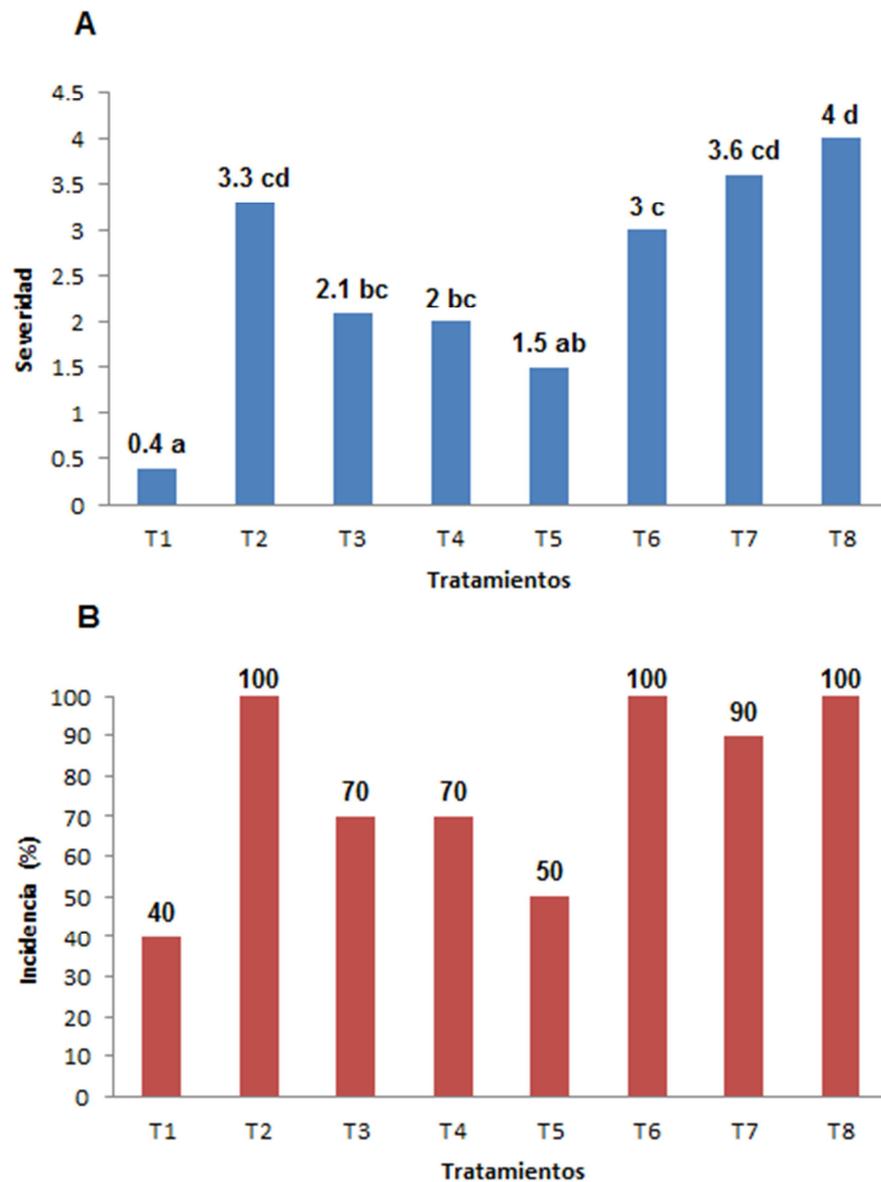


Figura 18. Efecto del extracto etanólico de *Flourensia cernua* en: A) Incidencia (%) y B) Severidad de la enfermedad en plantas de tomate al final del ciclo del cultivo. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC, DMS (P<0.01)

Jasso de Rodríguez *et al.* (2012), reportaron que los extractos crudos y fraccionados de diferente polaridad de *F. cernua* inhibieron *in vitro* el desarrollo micelial de *Rhizoctonia solani*, *Phytium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum fragariae*, *Colletotrichum gloesporioides* Penz, *Colletotricum accutatum* Simmons, *Phytophthora infestans*, *Alternaria* sp., *Alternaria alternata* y *Penicillium digitatum*.

En la Figura 19 se diferencia el desarrollo de las plantas de tomate en cada uno de los tratamientos evaluados. Los síntomas más notables de *Fol* ocurrieron al inicio de la floración, poco después de la formación de los primeros frutos (Alpi y Tognoni, 1991; Santos *et al.*, 2004). Siendo el testigo inoculado el más afectado por el patógeno ya que presenta signos evidentes de clorosis, oscurecimiento vascular en los tallos y marchitamiento total de la planta, propios de *Fol*. Las plantas donde se aplicaron las concentración de 1,000 ppm (T₆), 1,500 ppm (T₇) y 2,000 ppm (T₈) del EFC presentan la misma sintomatología que el testigo inoculado donde se observa claramente marchitez de las hojas y tallos, necrosis de las hojas que se extendió hacia toda la planta, epinastia y achaparramiento (Gordon y Martyn, 1997; Sánchez, 1998).

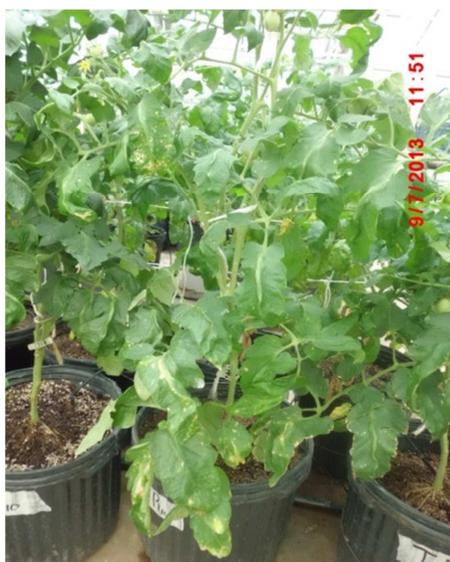
Sin embargo para las concentraciones bajas que se evaluaron (T₃= 100 ppm, T₄= 300 ppm y T₅=500 ppm), las plantas son similares al testigo absoluto. En el tratamiento donde se aplicó 100 ppm (T₃) del EFC se observa un ligero aclaramiento en el ápice de los folíolos, pero en cuanto a las concentraciones de 300 ppm (T₄) y 500 ppm (T₅) no se nota visualmente síntomas propios del patógeno. Según Marshall y Rush (1980) la severidad de la enfermedad está



Testigo absoluto (T₁)



Testigo inoculado (T₂)



Concentración 100 ppm (T₃)



Concentración 300 ppm (T₄)



Concentración 500 ppm (T₅)



Concentración 1,000 ppm (T₆)



Concentración 1,500 ppm (T₇)



Concentración 2,000 ppm (T₈)

Figura 19. Control del extracto de *F. cernua* en *F. oxysporum* inoculado en plantas de tomate

directamente relacionada con la formación de estructuras de infección y al respecto señalaron que esta habilidad es estimulada por el hospedante.

Se ha sugerido que el efecto de los extractos vegetales sobre los patógenos se deba a los metabolitos secundarios presentes en ellos (Marcano y Hasegawa, 2002). Por tal razón se podría atribuir la inhibición de *Fusarium oxysporum* por el extracto etanólico de *Flourensia cernua* debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que posee. Se han reportado nueve especies de *Flourensia* (Faini *et al.*, 1997; Uriburi *et al.*, 2004; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2007; Uriburi *et al.*, 2007; Díaz *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2012; Reyes *et al.*, 2013), siendo *Flourensia cernua* la que tiene el mayor número de compuestos químicos (Aregullín y Rodríguez, 1983). Estudios fitoquímicos de hojas en han dado como resultado el aislamiento y la caracterización de varios flavonoides (Rao *et al.*, 1970; Dillon *et al.*, 1976; Wollenweber y Dietz, 1981), teniendo este grupo de compuestos un amplio rango de actividad biológica que incluye la actividad antimicrobiana, antifúngica, antiviral, atrayente de polinizadores, protectora de las plantas contra la luz ultravioleta y antioxidante (Birt *et al.*, 2001; Bruneton, 2001; Maneemegali y Naveen, 2010).

Kingston *et al.* (1971); Pettersen *et al.* (1975); Estell *et al.* (1994); Tellez *et al.* (1997, 2001), reportan la presencia de sesquiterpenoides y monoterpenoides en *Flourensia cernua*. El modo de acción de los terpenos está basado en su habilidad para dañar las biomembranas. En función de sus características lipofílicas interactúan con las enzimas de la membrana e interfieren procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y

fosfolípidos (Cowan, 1999; Lucíní *et al.*, 2006). Además se ha reportado la presencia de α -pineno y limoneo (Himejima *et al.*, 1992; Tellez *et al.*, 1997; Tellez *et al.*, 2001) en *Flourensia cernua*. Peñuelas *et al.* (1996), reportaron que el cineol reduce la división celular y que el limoneno, el α -pineno y el β -pineno inhiben el consumo de oxígeno.

Existen reportes promisorios del uso de hojasén para inhibir distintos hongos fitopatógenos *in vitro*, por ejemplo el extracto metanólico de ésta especie inhibió en un 88.44 y 86.23 % a *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* respectivamente dentro de las 48 h de incubación con una concentración de 20,000 ppm (Gamboa *et al.*, 2003). López *et al.* (2005) obtuvieron inhibición micelial de *Fusarium oxysporum* con el extracto acuoso de *Flourensia cernua* a las 72 h de incubación en un 53.8 % con una concentración del 5 % y 71.6 % con una concentración del 10 %.

Aunque en estos reportes el porcentaje de inhibición sea muy bajo, o la concentración muy alta esto depende de la metodología como del solvente para dicha extracción, así como lo reportan Guerrero *et al.* (2007) donde evaluaron distintos solventes (hexano, éter, metanol:cloroformo, etanol) y obtuvieron mejores resultados al utilizar etanol, logrando una inhibición micelial del más del 90 % a 500 ppm de *Penicillium digitatum* y *Colletotrihcum gloeosporioides*. Téllez *et al.* (2001) reportaron que obtuvieron mejores resultados con el extracto etanólico de hojasén debido a la alta polaridad del solvente ya que permite extraer compuestos con mayor inhibición para *Colletotrichum fragariae*,

Colletotrichum gloeosporioides y *Colletotrichum accutatum* con concentración de 400 µg.

Jasso de Rodríguez *et al.* (2007), reportaron inhibición del 100 % de *F. oxysporum in vitro* a una concentración de 1,500 ppm del extracto etanólico de *F. cernua*, sin embargo en la presente investigación (*in vivo*) las concentraciones altas no redujeron favorablemente los síntomas causados por *Fusarium oxysporum*. Estos mismos investigadores reportan inhibición micelial *in vitro* del 81 % de *F. oxysporum* a 500 ppm del extracto de *Flourensia cernua* lo que fue base para este trabajo y se puede observar claramente que el extracto etanólico de hojasén tiene efecto fungistático.

Contreras *et al.* (2011), reportaron inhibición micelial del 100 % de *F. oxysporum in vitro* utilizando extracto de *Cowania plicata* a una concentración de 55,000 ppm. Ochoa *et al.* (2012) reportaron que el extracto metanólico de *Annona cherimola* mostro inhibición micelial de este mismo hongo a un 72.95 % y 89.55 % con las concentraciones de 6,000 y 10,000 ppm respectivamente, sin embargo con concentraciones de 250 y 300 ppm de *Cinnamomum zeylanicum* apenas alcanzaron una inhibición del 39.38 y 43.15 % respectivamente.

Los resultados de la presente investigación muestran que las concentraciones bajas ($T_3= 100$ ppm, $T_4= 300$ ppm y $T_5= 500$ ppm) del extracto controlaron mayoritariamente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, sobresaliendo la concentración de 500 ppm, la cual ocasionó una reducción del crecimiento micelial y de la marchitez del tomate. Los resultados de este trabajo concuerdan con los de Rodríguez y Montilla (2002), quienes demostraron que el

extracto *Citrus paradisi* tiene efecto sobre el control de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* al aplicar el extracto en las raíces de las plantas antes del trasplante, como un efecto protector, pero fue necesario realizar aplicaciones semanales al suelo para controlar la enfermedad. Los investigadores suponen que el producto Citrex (CitruPar 80^{MR}) es absorbido por las raíces y conducido a través de los vasos del xilema.

4.2.2. Peso seco de raíces

Los resultados del análisis estadístico del peso seco de las raíces mostraron diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$) (Figura 20). El testigo absoluto (T_1) y el tratamiento de 500 ppm fueron estadísticamente iguales y diferentes al resto de los tratamientos, lo anterior nos indica que la concentración de 500 ppm del extracto etanólico de hojaseñ protegíó a la planta de tomate y evitó la entrada del patógeno por las raíces, por lo cual esta concentración del extracto de *Flourensia cernua* permitió un desarrollo radical similar al del testigo absoluto.

En la Figura 21 se muestra el efecto del extracto de *Flourensia cernua* en el desarrollo radical de las plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Se observa que el testigo inoculado (T_2) presenta raíces con un menor desarrollo radicular que el testigo absoluto, además presenta síntomas de necrosis tanto en raíces principales como secundarias con un color café oscuro, con adelgazamiento de las raíces y mostrando un aspecto esponjoso, lo cual muestra que fue afectado severamente por *Fusarium oxysporum*. Las plantas donde se aplicaron las concentraciones de 1,000 ppm

(T₆), 1,500 ppm (T₇) y 2,000 ppm (T₈) del EFC presentaron similar sintomatología que el testigo inoculado, donde se observa claramente que el desarrollo radicular fue menor que el testigo absoluto (T₁), mostrando los valores medios más bajos de los tratamientos donde se aplicó el EFC (Figura 20). Lo anterior indica que estas concentraciones altas del EFC aplicadas a las plantas de tomate no presentaron control en *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

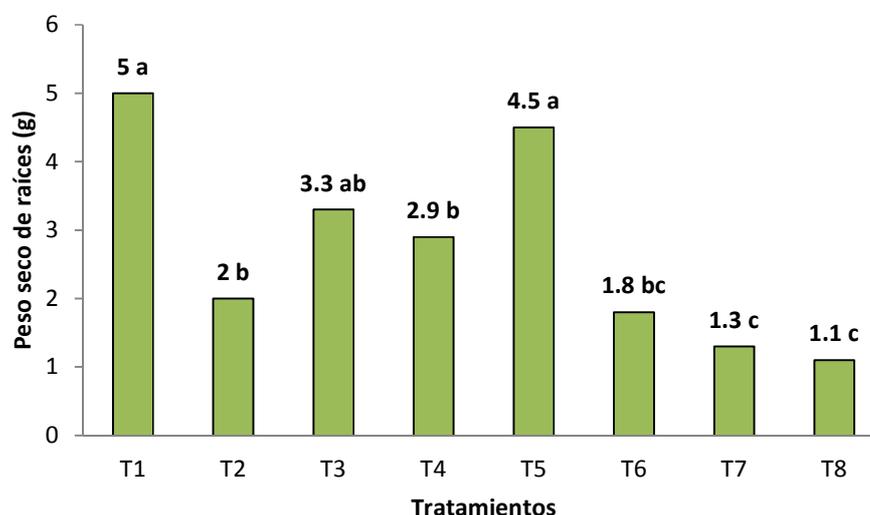


Figura 20. Medias del peso seco de raíces. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos, DMS (P<0.05).

Para las concentraciones de 100 ppm (T₃) y 300 ppm (T₄) el sistema radical también mostró un color café pero en menor intensidad que las concentraciones altas (T₆=1,000 ppm T₇=1,500 ppm y T₈=2,000 ppm) y que el testigo inoculado, además se observa que las raíces en comparación con estos



Testigo absoluto (T₁) (T₁)



Testigo inoculado (T₂)



Concentración 100 ppm (T₃)



Concentración 300 ppm (T₄)



Concentración 500 ppm (T₅)



Concentración 1,000 ppm (T₆)



Concentración 1,500 ppm (T₇)



Concentración 2,000 ppm (T₈)

Figura 21. Efecto del extracto etanólico de *F. cernua* en el control de *F. oxysporum* en las raíces

mismos tratamientos son más gruesas para estos dos tratamientos. Sin duda el tratamiento que sobresale y que estadísticamente ($P < 0.05$) es igual que el testigo absoluto (T_1) es la aplicación de 500 ppm (T_5) del EFC. Al comparar el desarrollo radicular en ambos tratamientos los dos manifiestan un grosor similar en las raíces, la coloración que presenta es crema a comparación del testigo inoculado (T_2) que son café oscuro. El efecto antifúngico del extracto de hojasén se puede deber a la presencia de algunos compuestos como flavonoides (Wollenweber y Dietz, 1981) y terpenos (Tellez *et al.*, 2001) a estos últimos se les atribuye la habilidad para dañar las biomembranas interfiriendo en procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos (Cowan, 1999; Lucíní *et al.*, 2006).

4.2.3. Altura de planta

El análisis de varianza para altura de planta presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) a los 17 DDT en donde la prueba de DMS mostró que la concentración de 500 ppm es igual que el testigo absoluto, y a los 94 DDT esta misma concentración sobresale en comparación con los tratamientos donde se aplicó el extracto. Sin embargo para las mediciones de altura hasta los 31 DDT, los tratamientos de concentraciones bajas: T_3 (100 ppm), T_4 (300 ppm) y T_5 (500 ppm) obtuvieron los valores medios más altos después del testigo absoluto y para las evaluaciones de 38 DDT a 94 DDT estas mismas concentraciones siguen sobresaliendo después de los dos testigos, continuado la solución de 500 ppm con valores medios más altos que los otros tratamientos donde se

aplicó el extracto (Cuadro 2). Esta respuesta de las plantas de tomate a los tratamientos donde se aplicó el EFC, nos indica que las concentraciones de 100 ppm (T₃), 300 ppm (T₄) y 500 ppm (T₅) protegieron a las plantas de tomate contra el ataque de *F. oxysporum*, tomando en cuenta que los valores promedios de todas las fechas evaluadas resultaron más altos (42.56 cm, 44.42 cm y 46.88 cm, respectivamente) en comparación con los tratamientos donde se aplicó el extracto de *F. cernua*.

Cuadro 2. Comparación de medias de altura de la planta (cm)

DDT	Tratamientos								P > F
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	
10	13.6 a	10.8 a	12.6 a	12.9 a	12.5 a	12.1 a	11.7 a	11.6 a	NS
17	20.8 a	16.3 c	17.7 bc	17.7 bc	19.5 ab	17.1 bc	17.7 bc	16.9 bc	0.05
24	29.6 a	24.8 a	26.7 a	25.5 a	28.9 a	24.9 a	25.6 a	23.1 a	NS
31	41.7 a	36.8 a	37.0 a	36.5 a	38.9 a	31.8 a	36.1 a	30.4 a	NS
38	54.9 a	48.3 a	46.2 a	45.3 a	47.4 a	37.4 a	45.2 a	36.3 a	NS
45	63.3 a	62.8 a	52.4 a	52.4 a	53.7 a	43.3 a	48.7 a	40.5 a	NS
52	71.6 a	72.1 a	50.9 a	55.9 a	60.5 a	50.6 a	49.3 a	43.6 a	NS
59	70.0 a	72.7 a	52.0 a	57.1 a	61.8 a	50.8 a	53.9 a	41.5 a	NS
66	72.0 a	77.5 a	53.2 a	60.9 a	62.0 a	51.6 a	54.4 a	42.3 a	NS
73	74.0 a	81.5 a	54.3 a	61.7 a	59.6 a	46.6 a	58.4 a	42.7 a	NS
80	75.1 a	83.7 a	49.3 a	57.8 a	58.5 a	49.2 a	52.6 a	42.1 a	NS
87	77.9 a	76.3 a	50.6 a	51.5 a	55.0 a	48.2 a	46.3 a	35.9 a	NS
94	83.7 a	72.2 ab	50.5 abc	42.3 bc	51.2 abc	39.5 bc	40.8 bc	21.3 c	0.05

DDT: Días después del trasplante, T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales en la misma fila indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos, DMS (P<0.05).

Por otra parte los tratamientos de 1,000 ppm (T₆) y 2,000 ppm (T₈) en su mayoría no presentaron diferencia significativa lo cual nos indica que las plantas tuvieron un menor crecimiento vegetativo, en relación al resto de los

tratamientos evaluados (Cuadro 2, Figura 22). Los valores bajos de altura presentados en T₆ y T₈, lo podríamos atribuir a que las concentraciones del extracto (1,000 y 2,000 ppm de EFC, respectivamente), no lograron controlar el ataque del *Fusarium oxysporum*, el cual pudo penetrar a través de las heridas de la raíz y propagarse intercelularmente a través de ésta, cuando el patógeno se encuentra en los vasos, el micelio se ramifica y produce microconidios en su interior, que son desprendidos y llevados a la parte superior de la planta por el flujo ascendente del agua del xilema (Agrios, 2007). Lo anterior provocó achaparramiento de las plantas, lo cual es un síntoma característico de la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Tello y Lacasa, 1987; Sánchez, 1998; Paulos, 2001; Apodaca *et al.*, 2004).

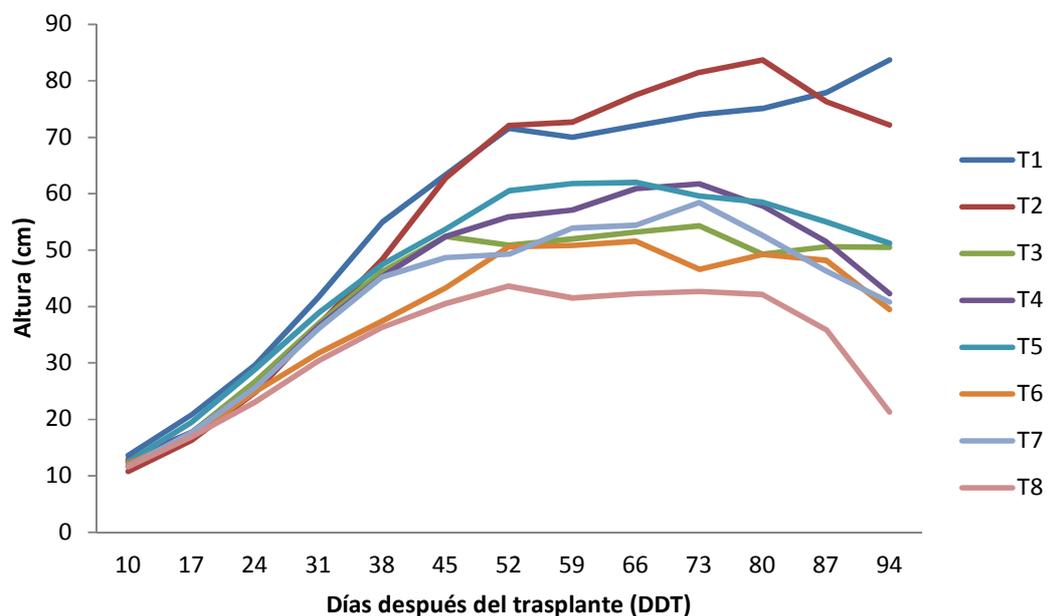


Figura 22. Altura de planta de tomate en el transcurso del ciclo del cultivo. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC.

Estos resultados son similares a los obtenidos para las variables severidad e incidencia y concuerdan además con los resultados de peso seco de raíces y de las observaciones efectuadas en cosecha.

4.2.4. Diámetro de tallo

El tallo es el soporte de la planta y el sistema distribuidor principal de agua y nutrientes, de ahí que es importante que se encuentre en las mejores condiciones posible. El diámetro del tallo influye de manera significativa en el rendimiento como lo menciona Adams (1982) y Muñoz (2009), el tallo es un órgano de sostén, traslocación de agua, nutrientes y asimilados, de arquitectura y de almacén, funciones de gran importancia en la productividad de los cultivos. Paulos (2001), menciona que *F. oxysporum* ocasiona muerte vascular en el tallo y al realizar un corte transversal se puede notar, manifestándose de color café en forma de anillo y presentándose en forma ascendente conforme avanza la enfermedad. Los resultados del análisis de varianza del diámetro de tallo mostraron diferencia significativa ($P < 0.05$) a los 24 DDT superando la concentración de 500 ppm al testigo absoluto. A los 45 y 66 DDT ($P < 0.05$ y $P < 0.01$, respectivamente) esta misma concentración fue igual que el testigo absoluto, sin embargo para los 73 DDT ($P < 0.05$) se presentó el mismo comportamiento pero con la concentración de 300 ppm. A los 80, 87 y 94 DDT ($P < 0.05$) nuevamente el T₅ (500 ppm) resultó ser la mejor concentración en comparación con los tratamientos donde se aplicó el extracto. Finalmente en las mediciones a los 10, 17, 31, 38, 52 y 59 DDT donde no se presentó

significancia se observar que los tratamientos que tienen los valores medios más altos son las concentraciones de 100, 300 y 500 ppm, sobresaliendo este último (Cuadro 3, Figura 23).

A mayor diámetro de tallo, 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 nutrimentos hacia los órganos reproductivos.

Cuadro 3. Comparación de medias del diámetro de tallo (mm)

DDT	Tratamientos								P > F
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	
10	3.52 a	3.11 a	3.36 a	3.40 a	3.46 a	3.34 a	3.20 a	3.11 a	NS
17	4.27 a	3.72 a	4.44 a	4.40 a	4.30 a	4.04 a	3.78 a	3.82 a	NS
24	5.55 ab	4.71 bc	5.45 ab	5.20 abc	5.65 a	4.50 c	4.66 bc	4.50 c	0.05
31	7.07 a	5.59 a	6.09 a	6.32 a	6.29 a	5.29 a	5.63 a	4.75 a	NS
38	7.64 a	6.02 a	6.86 a	6.52 a	7.09 a	5.45 a	6.15 a	4.62 a	NS
45	9.38 a	5.96 bc	7.04 bc	7.12 bc	7.38 ab	6.47 bc	6.54 bc	5.17 c	0.05
52	9.37 a	5.80 a	7.05 a	7.22 a	7.51 a	6.05 a	6.47 a	5.25 a	NS
59	9.14 a	6.15 a	7.35 a	7.61 a	7.80 a	6.25 a	6.30 a	5.23 a	NS
66	10.47 a	5.50 c	7.74 abc	6.83 bc	8.82 ab	6.30 bc	6.44 bc	4.92 c	0.01
73	11.41 a	4.87 c	8.16 abc	8.58 ab	9.19 abc	6.32 bc	6.51 bc	5.73 bc	0.05
80	13.31 a	6.03 b	8.37 b	8.29 b	10.25 ab	7.77 b	6.95 b	6.23 b	0.05
87	12.41 a	5.00 b	7.26 b	6.66 b	9.43 ab	6.54 b	6.19 b	5.30 b	0.05
94	12.55 a	3.51 c	6.55 bc	7.22 bc	10.33 ab	6.32 bc	5.87 bc	5.50 bc	0.05

DDT: Días después del trasplante, T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales en la mismas fila indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos, DMS (P<0.05).

Lo anterior muestra que las concentraciones bajas de 100, 300 y 500 ppm desarrollaron mayor grosor de tallo y esto se atribuye a la protección del EFC contra *F. oxysporum* debido a los componentes biológicos del extracto de *F. cernua*.

Sin embargo los tratamientos T₆ (1,000 ppm), T₇ (1,500 ppm) y T₈ (2,000 ppm), reportaron los valores medios más bajos del grosor de tallo. Estos resultados se atribuye a que las concentraciones mencionadas no brindaron protección a las plantas de tomate contra *F. oxysporum*, permitiendo que el patógeno ocasionara lesiones necróticas en el cuello de la planta sobre la base del tallo, afectando la corteza, médula y cilindro vascular (Apodaca *et al.*, 2002).

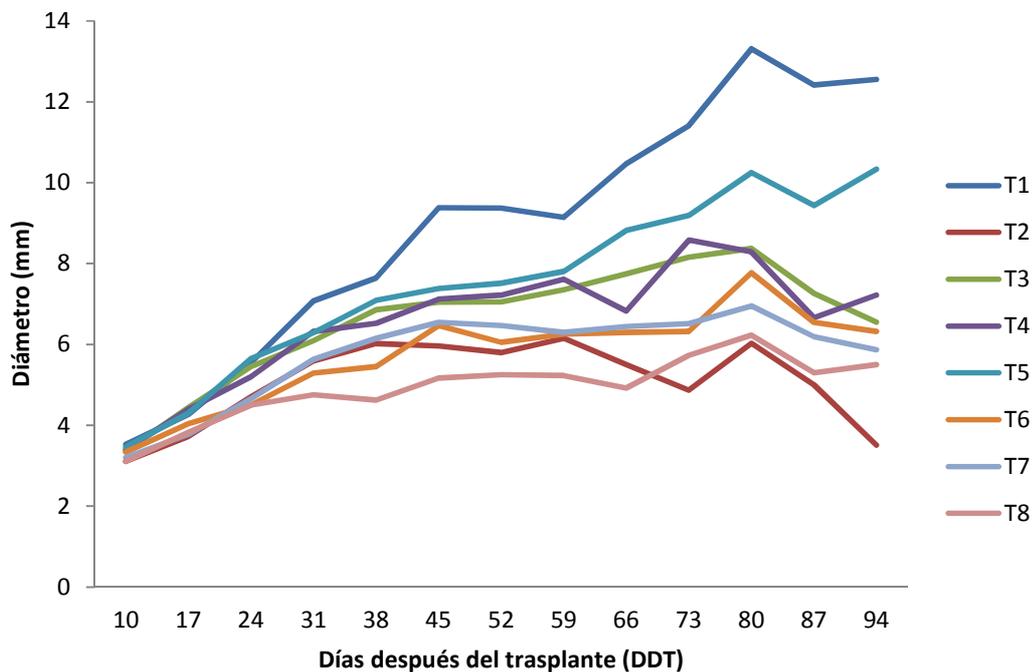


Figura 23. Diámetro de tallo de la planta de tomate en el transcurso del ciclo del cultivo. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el análisis de varianza de peso seco de raíces (Figura 20), altura de la planta (Figura 22), así como con las observaciones realizadas a las raíces en cosecha (Figura 21). El análisis conjunto de esta información nos dá como resultado que la concentración de 500 ppm (T₅), promovió en las plantas de tomate una mayor protección contra el ataque de *F. oxysporum* en relación a la concentración de 2,000 ppm (T₈) del extracto etanólico de hojasén.

4.3. Efecto del extracto de *Flourensia cernua* DC. en la evaluación de las plantas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* durante la cosecha

Otras variables de crecimiento de la planta evaluadas fueron: el peso fresco total de la planta (PFTP), hojas (PFH), tallos (PFT), peso seco total de la planta (PSTP), hojas (PSH), tallos (PST), número de hojas (NH), número de nudos (NN), número de entrenudos (NEN), y número de frutos.

4.3.1. Peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos

El análisis de varianza mostró significancia para las variables peso fresco total de la planta, seco total de la planta, peso fresco de hojas, peso seco de hojas, peso fresco de tallos y peso seco de tallos (PFTP, PSTP, PFH, PSH, PFT y PST, respectivamente a $P < 0.01$) donde la media superior la obtuvo el testigo absoluto (592.5 g, 107.4 g, 446.4 g, 82.0 g, 146.1 g y 25.4, respectivamente) siguiéndole la concentración de 500 ppm (329.0 g, 62.1 g, 233.0 g, 45.5 g, 96.0 g y 16.6 g, respectivamente) (Cuadro 4, Figura 24). El

testigo inoculado (T₂) y la concentración de 2,000 ppm (T₈) obtuvieron los valores medios más bajos para ambas variables (145.1, 18.9 g, 115.9 g y 13.9 g; 193.2, 41.7 g, 134.5 g y 29.8 g, respectivamente).

Cuadro 4. Comparación de medias de las variables de crecimiento evaluadas en plantas de tomate después de la cosecha

Variable	Tratamiento								P > F
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	
PFTP	592.5 a	145.1 b	280.6 b	250.4 b	329.0 b	213.3 b	223.0 b	193.2 b	0.01
PFH	446.4 a	115.9 b	198.1 b	186.9 b	233.0 b	157.6 b	165.2 b	134.5 b	0.01
PFT	146.1 a	29.2 c	82.5 bc	63.5 bc	96.0 ab	57.8 bc	55.7 bc	55.7 bc	0.01
PSTP	107.4 a	18.9 c	56.1 b	53.6 bc	62.1 b	49.6 bc	51.6 bc	41.7 bc	0.01
PSH	82.0 a	13.9 c	42.9 b	41.7 bc	45.5 b	39.9 bc	41.7 bc	29.8 bc	0.01
PST	25.4 a	5.0 c	13.2 b	11.9 b	16.6 ab	11.7 b	11.9 b	7.9 b	0.01
NH	72.7 a	15.7 a	44.9 a	37.6 a	52.0 a	21.3 a	28.5 a	28.5 a	NS
NN	49.3 a	8.5 c	36.2 ab	25.9 bc	23.5 bc	22.6 bc	21.8 bc	21.1 bc	0.05
NEN	41.0 a	8.1 c	37.1 ab	20.2 bc	25.9 abc	19.5 bc	17.4 bc	16.4 bc	0.05
NF	17.1 a	2.8 c	8.6 bc	8.2 bc	14 ab	8.1 bc	6.8 bc	4.3 c	0.01

PFTP: Peso fresco total de la planta (g), PFH: Peso fresco de hojas (g), PFT: Peso fresco de tallos (g), PSTP: Peso seco total de la planta (g), PSH: Peso seco de hojas (g), PST: Peso seco de tallos (g), NH: Número de hojas, NN: Número de nudos, NEN: Número de entrenudos y NF: Número de frutos. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales en la misma fila indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos, DMS (P<0.05).

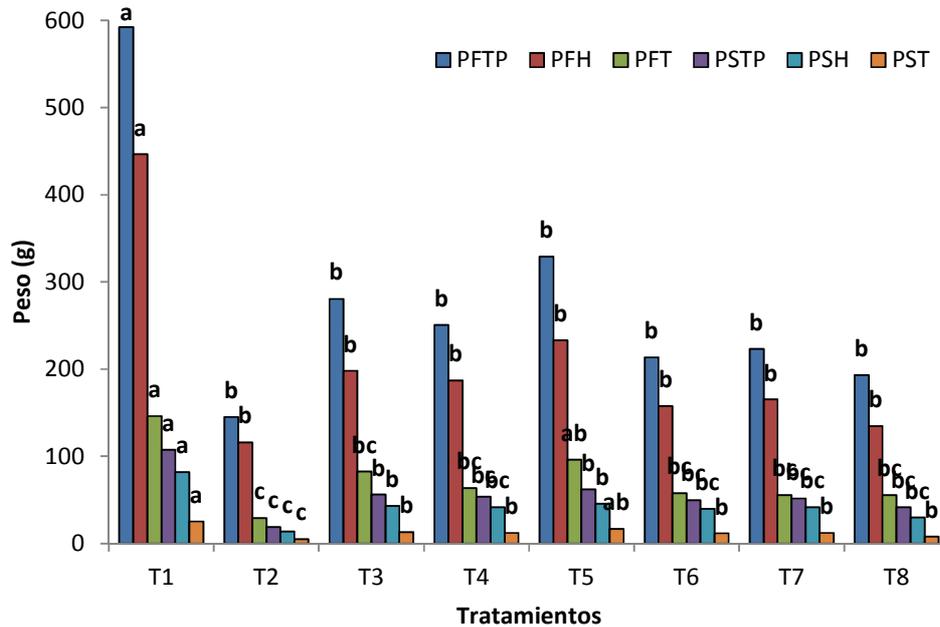


Figura 24. Prueba de comparación múltiple de medias del peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos. Medias con letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos. DMS ($P < 0.01$)

4.3.2. Número de hojas, nudos y entrenudos

Para el número de hojas (NH) los valores medios más altos lo obtuvo el testigo absoluto y la concentración de 500 ppm (72.7 y 52.0, respectivamente), siendo los tratamientos T_2 (Testigo inoculado) y T_8 (2,000 ppm) los más afectados por el patógeno ya que presentaron los valores medios más bajos (15.7 y 28.5, respectivamente) (Cuadro 4). Cabe destacar que una de las sintomatologías ocasionada por *Fusarium oxysporum* es el marchitamiento de sus hojas inferiores que se extiende hasta la parte superior, causando también defoliación, necrosis marginal de sus hojas y finalmente la muerte (Agrios, 2007).

En cuanto al número de nudos y entrenudos (NN y NE, respectivamente) el análisis de varianza mostró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos (Cuadro 4), obteniendo la concentración de 100 ppm (T_3) los valores medios más altos en comparación con los tratamientos donde se aplicó el EFC, siendo este tratamiento igual al testigo absoluto de acuerdo a la comparación de medias (DMS).

Para el número de frutos (NF) el análisis de varianza mostró diferencia significativa ($P < 0.01$) entre los tratamientos, siendo el T_5 (500 ppm) quien presentó el valor medio más alto (14.0) en comparación con los tratamientos donde se aplicó el EFC (Cuadro 4), igualándose al testigo absoluto (T_1).

Estos resultados presentan el mismo comportamiento que las variables antes evaluadas. El análisis conjunto de esta información nos da como resultado que las concentraciones bajas ($T_3 = 100$ ppm, $T_4 = 300$ ppm y $T_5 = 500$ ppm), promueven en las plantas de tomate una mayor protección contra el ataque de *F. oxysporum*, en relación con las concentraciones altas del EFC ($T_6 = 1,000$ ppm $T_7 = 1,500$ ppm y $T_8 = 2,000$ ppm).

4.4. Efecto del extracto de *Flourensia cernua* DC. en la evaluación de la calidad del fruto de tomate.

Los resultados del análisis de varianza para las variables peso fresco del fruto (PFF), diámetro polar (DP) y ecuatorial (DE) fueron no significativos (NS). Los valores medios en la variable peso fresco del fruto oscilaron entre los 162 a

67 g obteniendo el testigo absoluto y la concentración de 500 ppm (T₁ y T₅, respectivamente) los valores más altos (Figura 25).

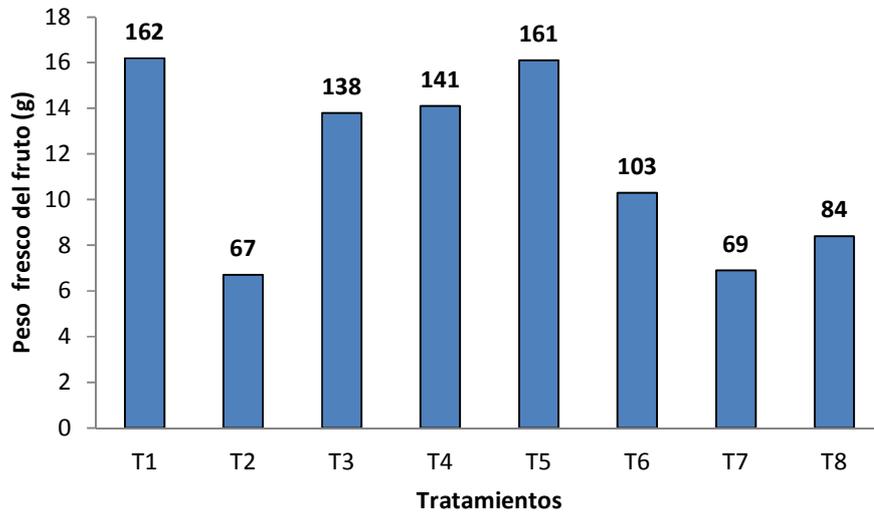


Figura 25. Medias del peso fresco del fruto. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC

Para clasificar los frutos según su calidad se toman en cuenta varias características entre ellas el tamaño del fruto. Este indicador lo determina el volumen del fruto, es decir, el diámetro polar y ecuatorial del fruto (Mendoza, 1995).

El diámetro polar varió de 14.9 a 30.4 mm y para el diámetro ecuatorial los valores medios fueron de 14.7 a 28.1 mm, obteniendo el testigo absoluto y la concentración de 300 ppm (T₁ y T₄, respectivamente) los valores medios más altos (Figura 25). Sin embargo la concentración de 2,000 ppm sigue teniendo el

mismo comportamiento al obtener el valor medio más bajo en comparación con los tratamientos donde se aplicó el extracto (Figura 26).

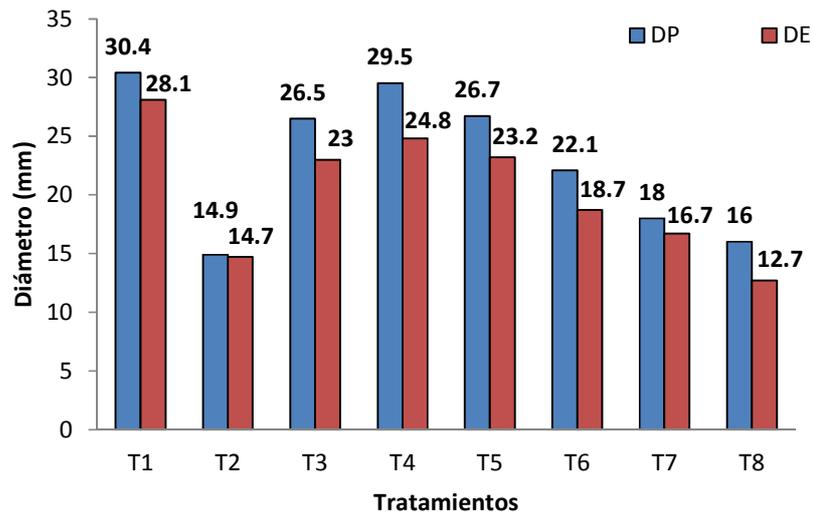


Figura 26. Medias del diámetro polar y ecuatorial del fruto. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC.

Los resultados del análisis de varianza para las variables firmeza (F), potencial de hidrógeno (pH) y sólidos solubles totales (SST) mostraron que no existe diferencia significativa entre los tratamientos. Sin embargo el testigo absoluto obtuvo los valores medios más altos seguido de la concentración de 500 ppm del EFC. El contenido de vitamina C mostró diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.01$) de acuerdo al análisis de varianza, donde los tratamientos de 100, 300 y 500 ppm (concentraciones bajas) son estadísticamente igual al testigo absoluto (T₁) según la prueba de comparación de medias (DMS) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de medias de las variables evaluadas en la calidad del fruto

Variable	Tratamiento								P > F
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	
F	3.3 a	1.7 a	2.6 a	2.6 a	2.9 a	2.5 a	1.9 a	1.8 a	NS
pH	4.0 a	2.0 a	3.3 a	3.2 a	3.6 a	2.9 a	2.4 a	2.4 a	NS
SST	8.3 a	4.0 a	6.9 a	7.2 a	7.3 a	5.2 a	6.4 a	4.8 a	NS
Vit C	13.1 a	4.4 d	9.6 bc	9.8 ab	10.4 ab	6.3 bcd	9.3 abc	4.7 cd	0.01

F: Firmeza (kg · F), pH: Potencial de hidrógeno, SST: Sólidos dolubles totales (°Brix), Vit C: Vitamina C (%). T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales en la misma fila indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos, DMS (P<0.01).

La firmeza de frutos de tomate es un parámetro que mide la resistencia de la penetración de los tejidos del fruto. Este es un factor importante ya que la firmeza generalmente está relacionada con la sanidad del fruto, la concentración de azúcares, el pH, el sabor y aroma del fruto, sobre todo al alcanzar la coloración de consumo (Riquelme, 2001). Los valores medios de firmeza variaron de 1.7 a 3.3 kg · fuerza, obteniendo los valores medios más bajos el testigo inoculado y la concentración de 2,000 ppm (3.3 y 2.9 kg fuerza, respectivamente). La firmeza de los frutos de tomate es uno de los componentes importantes para el procesamiento y empaqueo de frutos frescos. Es afectada de manera importante por diversos factores ambientales como la nutrición y exceso de nitratos, la interacción entre la cantidad de agua y el contenido de calcio en el fruto (Taylor *et al.*, 2002).

El concepto pH se refiere a la medida de la concentración de iones H^+ en solución acuosa, y por lo tanto el carácter básico o ácido: se expresa en concentraciones de iones H^+ afirmando que el pH 7 es neutro, 6 ácido u 8 básico (Ansorena, 1994).

En los frutos de tomate, el pH del fruto es una característica sensorial relacionada con los cambios que sufren los frutos durante la maduración. Es considerado como un índice de cosecha para ciertas especies. Prácticamente todos los alimentos contienen cierto pH. Para un buen sabor en los frutos de tomate, se considera necesario valores de pH inferiores a 4.4 (Nisen *et al.*, 1990).

El pH de los distintos tratamientos evaluados mostró valores medios de 2 a 4 (Cuadro 5), mostrándose el mismo comportamiento ya que tanto el testigo absoluto como la concentración de 500 ppm presentan los valores medios más altos. Flores *et al.* (2003) menciona que el incremento en la salinidad y el amonio, provoca que el pH del jugo de tomate disminuya.

El contenido de sólidos solubles totales varió de 4 a 8.3 °Brix, obteniendo los valores medios más altos el testigo absoluto y la concentración de 500 ppm (8.3 y 7.3 °Brix, respectivamente) (Cuadro 5). Valle y Rodríguez (2011) evaluaron el desarrollo fisiológico postcosecha del tomate procedente del Valle de Santa, Áncash (Perú) obteniendo valores similares a los de la presente investigación ya que reportan valores de 4 a 7.5 °Brix. Sin embargo Nuez (2001) menciona que los sólidos solubles totales, en la mayor parte de las

variedades se sitúan entre los 4.5 y 5.5 % de °Brix, o bien en el intervalo de 4.5 a 7.5 % (Triano y Clair, 1995; Jones, 1999).

El incremento de los sólidos solubles totales, se presenta conforme la maduración de los frutos avanza, a través de la conversión de almidones en azúcares (Pantástico, 1984). Los frutos con altas concentraciones de sólidos solubles totales son los de mayor demanda por el consumidor, en forma natural y directa, así como por la agroindustria, ya sea para la conservación o transformación de los frutos (Acosta, 1977).

El análisis de varianza mostró diferencia significativa ($P < 0.01$) entre los tratamientos para la variables de vitamina C (Figura 27). Obteniendo el testigo absoluto y la concentración de 500 ppm los valores medios más altos (13.1 y 10.4 mg 100 g⁻¹, respectivamente) siendo estadísticamente iguales y los valores medios más bajos lo obtuvieron, el testigo inoculado y la concentración de 2,000 ppm (4.4 y 4.7 mg 100 g⁻¹, respectivamente).

Los valores de vitamina C aquí presentados son inferiores a los de Juárez *et al.* (2009), quienes reportaron variación de 37 a 65.6 mg 100 g⁻¹ en colectas de Puebla y Guerrero, pero sin embargo muy semejantes a los de Slimestad y Verheul (2005) y Raffo *et al.* (2002), entre 5.6 y 20.0 mg 100 g⁻¹ en peso fresco en tomate tipo “Cherry”.

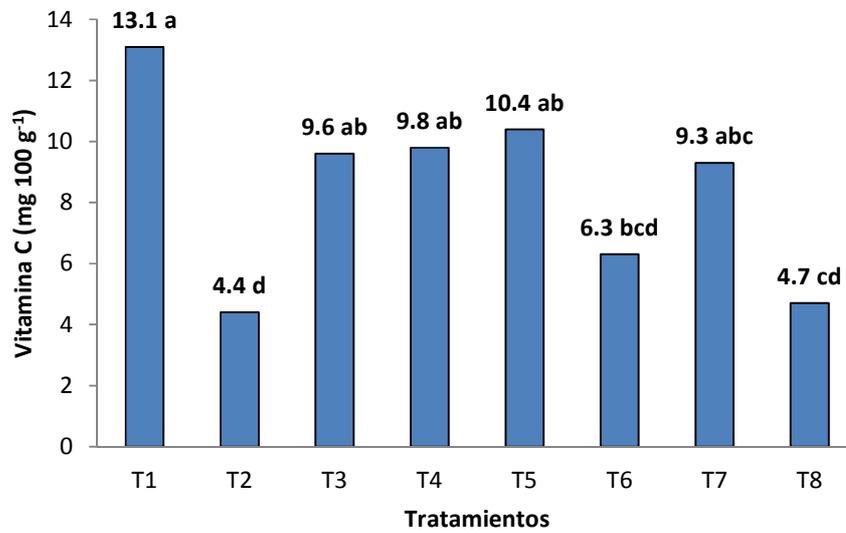


Figura 27. Medias del contenido de Vitamina C. T₁: Testigo absoluto; T₂: Testigo inoculado; T₃: 100 ppm; T₄: 300 ppm; T₅: 500 ppm; T₆: 1,000 ppm; T₇: 1,500 ppm y T₈: 2,000 ppm de EFC. Medias con letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos. DMS, P<0.01.

5. CONCLUSIONES

El extracto de *Flourensia cernua* DC ejerció control a bajas concentraciones contra el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate.

La concentración de 500 ppm del extracto etanólico de *Flourensia cernua* tuvo mayor control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, presentando menor severidad e incidencia de la enfermedad en plantas de tomate.

El mayor control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue por la concentración de 500 ppm, promovió mayor peso seco de raíz, altura de planta, diámetro de tallo, peso fresco y seco total de la planta, hojas y tallos, número de frutos, firmeza del fruto, contenido de sólidos solubles y vitamina C, que las otras concentraciones del extracto de *Flourensia cernua* DC.

Las concentraciones de 1,000 ppm, 1,500 ppm y 2,000 ppm del extracto de *Flourensia cernua* DC no controlaron el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, respuesta contraria a estudios *in vitro* reportados en la literatura.

La información básica de esta investigación abre la posibilidad de disponer de un producto natural para el control de *Fusarium oxysporum* y de esta forma contribuir a disminuir la utilización de productos sintéticos y la contaminación del ambiente.

6. LITERATURA CITADA

- Abad, M.J., M. Ansuategui y P. Bermejo. 2007. Active antifungal substances from natural sources. ARKAT ARKIVOC 116-145 p.
- About, J.Y., H. Sobh and A. Salameh. 2002. Antymicotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. J. Agr. Food Chem. 50:3208-3213.
- Acosta, R.M. 1997. Calidad de tres cultivares de papaya (*Carica papaya* L.) cera, maradol y subset, y la susceptibilidad a la antracosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en postcosecha. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo de México, México. 118 p.
- Adams, M.W. 1982. Plant architecture and yield breeding. J. Rese. 56:225-254.
- Agrios, G.N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 838 p.
- Aislan, U., K. Ilhan and O.A. Karabulut. 2009. Antifungal activity of aqueous extracts of spices against bean rust (*Uromyces appendiculatus*). J. Allelop. 24:207.
- Alonso, A.F. 2002. El cultivo de la papa. Editorial Mundi-Prensa. España. 229 p.
- Alpi, A. y F. Tognoni. 1991. Cultivo en invernadero. Editorial Edigrafos. España. 266 p.
- Anderson, B.S., J.W. Hunt, B.M. Phillips, P.A. Nicely, V. Vlaming, V. Connor, N. Richard, and R.S. Tjeerdema. 2003. Integrated assessment of the

impacts of agricultural drainwater in the Salinas River (California, USA).
Envir. Pollut. 124:523-532.

Ansorena, M.J. 1994. Sustratos propiedades y caracterización. Editorial Mundi-Prensa. España. 73-93 pp.

Apodaca, S.M.Á., M.E. Zavaleta, E.R. García, K.S. Osada y U.J.G. Valenzuela. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa, México, y su control. Rev. Mex. Fitopatol. 20:1-7.

Apodaca, S.M.Á., M.E. Zavaleta, K.S. Osada, E.R. García y U.J.G. Valenzuela. 2004. Pudrición de la corona del chile (*Capsicum annumm* L.) en Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatol. 22:22-29.

Aregullin, M., and E. Rodríguez. 1983. Phytochemical studies of the genus *Flourensia* from the Chihuahuan desert. Proceedings, Second Chihuahuan Desert Symposium. Department of Developmental and Cell Biology. University of California. Irvine, CA. 92717.

Argueta, V.A., A.L.M. Cano y M.E. Rodarte. 1994. Atlas de las Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista, México, D.F. 51 p.

Arredondo, V.D.G. 1981. Componentes de la vegetación del rancho demostrativo Los Ángeles. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México 284 p.

Ascencio, A.A., B.A. López, E.F. Borrego, H.S.A. Rodríguez, O.A. Flores, D.F. Jiménez y V.A.J. Gámez. 2008. Marchitez del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatol. 26:114-120.

Auger, J., I. Arnault, A.S. Dimo, M. Ravier, F. Molia, and M. Pettiti. 2004. Insecticidal and fungicidal potential of *Allium* substances as biofumigants. Agroindustria 3:367-370.

- Bajwa, R., A. Khalid and T.S. Cheema. 2003. Antifungal activity of allelopathic plant extracts III: Growth response of some pathogenic fungi to aqueous extract of *Pathenium hysterophorus*. Pak. J. of Plant Pathol. 2:145-156.
- Bansod S. and M. Rai. 2008. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. World J. Med. Sci. 3:81-88.
- Baños, G.P.E., M.E. Zavaleta, L.M.T. Colinas, R.I. Luna y A.J.G. Gutiérrez. 2004. Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz. y Sacc.] en papaya maradol roja (*Carica papaya* L.) y fisiología postcosecha de frutos infectados. Rev. Mex. Fitopatol. 22:198-205.
- Barcenas, C. 2005. Química y ecotoxicología de los fungicidas. En: Botello A.V., O.J. Rendón-von, B.G. Gold y H.C. Agraz (Eds). Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. 2ª Edición, Universidad Autónoma de Campeche. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 p.
- Barreiro, P.M. 1998. Jitomate y Soya. Rev. Clarid. Agropec. 62:3-18.
- Barrera, N.L.L., B.S. Bautista, E.M. Jiménez and C.R. Reyes. 2002. Influence of leaf, fruit and seed powders and extracts of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Fabaceae) on the in vitro vegetative growth of seven postharvest fungi. Rev. Mex. Fitopatol. 20:66-71.
- Barrera, N.L.L. y B.S. Bautista. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. Rev. Mex. Fitopatol. 22:27-31.
- Bautista, B.S. y N.L.L. Barrera. 2001. Tecnologías empleadas en el control de las enfermedades postcosecha de los productos hortofrutícolas. Memorias de investigación CeProBi-IPN 111-120 p.

- Bautista, B.S., N.L.L. Barrera, L.L. Bravo and T.K. Bermúdez. 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20:8-12.
- Bautista, B.S., D.E. García, N.L.L. Barrera, C.R. Reyes and C.L. Wilson. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharv. Biol. Tech.* 29:81-92.
- Bautista, B.S., L.M. Hernández and M.E. Bosquez. 2004a. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22:178-186.
- Bautista, B.S., A.J. De Lucca and C.L. Wilson. 2004b. Evaluation of the antifungal activity of natural compounds to reduce postharvest blue mould (*Penicillium expansum* Link.) of apples (*Malus domestica* Borkh.) during storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22:362-369.
- Beltrán, E. 1964. Las zonas áridas del centro del noreste de México y el aprovechamiento de sus recursos. Ed. Inst. Mex. Rec. Nat. Ren. México D. F. 78-79 pp.
- Benner, J. P. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. *Pest. Sci.* 39:95-102.
- Benson, L. and R.A. Darrow. 1981. Trees and shrubs of the Southwestern deserts. University of Arizona Press. Tucson, Arizona. U.S.A. 416 p.
- Bermúdez, T.D., J.E. Monteagudo, C.M. Boffill, C.L.E. Díaz, S.A. Roca y M.E. Betancourt. 2007. Evaluación de la toxicidad aguda de extractos de plantas medicinales por un método alternativo. *Rev. Electr. Vet.* 8:1-7.
- Bernal, C.A. y A.D. Armario. 2002. Impacto social del uso de los plaguicidas en el mundo. Congreso Internacional Virtual Agropecuario. UNAM. Disponible en línea: <http://www.congresociva.UNAM.mx/PDR10.doc>.

- Bernal, A.A., N.J.F. Zamora, C.G. Virgen y R.R. Nuño. 2005. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Lupinus* spp. sobre hongos fitopatógenos. Rev. Mex. Fitopatol. 23:140-146.
- Birt, D.F., S. Hendrich and W. Wang. 2001. Dietary agents in cancer prevention flavonoids and isoflavonoids. Pharmac. Therap. 90:157-177.
- Blake, S.F. 1913. Revision of the genus *Flourensia*. Proc. Amer. Acad. 49:393-409.
- Bohlmann, F. and M. Grenz. 1977. Über inhaltsstoffe der gattung *Flourensia*. Chem. Ber. 110:293-300.
- Bolívar, K., M.E. Sanabria, D. Rodríguez, M. Camacaro, D. Ulacio, L.J. Comana y Crescente. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz.& Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. Rev. UDO Agr. 9:175-181.
- Bourguet, D., A. Genissel and M. Raymond. 2000. Insecticide resistance and dominance levels. J. Econ. Entomol. 93:1588-1595.
- Bowers, W. S. 1971. Discovery of insect antiallotropins. *In*: Naturally occurring insecticides. Jacobson, M., and D.G. Croby (Eds). Marcel Dekker Inc. New York. 394-405 p.
- Boyraz, N. and M. Ozcan. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. Intl. J. Food Microbil. 107:238-242.
- Bravo, L.L., T. Bermúdez y B. Montes. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y alguno de sus componentes químicos. Man. Int. Plag. 57:29-34.

- Briones, O y Villarreal, Q. J. Á. 2001. Vegetación y flora de un ecotono entre las provincias del altiplano y de la planicie costera del noreste de México. *Acta Bot. Mex.* 55: 39-67.
- Brown, V.J. 2000. Efectividad del extracto de neem (*Azadirachta indica* Juss.) neemx sobre el pulgón verde del duraznero (*Myzus persicae* S.), en pimentón (*Capsicum annum* var. *grossum*) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad de Talca, Maule, Chile, 49 pp.
- Bruneton, J. 2001. Flavonoides. *In: Farmacognosia. Fitoquímica plantas medicinales.* Editorial Acribia segunda edición. España. 341p.
- Buffington, L.C. and C.H. Herbel. 1965. Vegetation changes and semidesert grass land range from 1858 to 1963. *Ecol. Monogr.* 35: 139-164.
- Camacho, C.M.R., C.M.A. Ramírez, O.G. Santiago, G.E. Garza, I.P. Palacios and H.J. Luna. 2008. Activity against drug resistant-tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. *Phytoth. Rese.* 22:82-85.
- Cárdenas, O.N.C., G.S. Pérez, S.M.A. Zavala, R.J.R. Aguirre y G.C. Pérez. 2005. Actividad antifúngica de seis plantas sobre *Aspergillus flavus* Link. *Rev. Mex. Cien. Farmac.* 36:21-26.
- Carrillo, F.J.A., R.T. Montoya, E.R.S. García, O.J.G. Cruz, Z.I. Márquez y B.A.J. Sañudo. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:123-127.
- Carrillo, Y.A., M.I. Gómez, J.M. Cotes y C.E. Núñez. 2010. Efecto de algunos aceites esenciales sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en condiciones de laboratorio. *Agron. Colomb.* 28:245-253.
- Castillo, J. 2004. Determinación de metabolitos secundarios en plantas silvestres del Parque Nacional Terepaima, Municipio Palavecino, estado

- Lara. Tesis de Maestría. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 103 p.
- Castillo, G.R. 2008. Actividad antibacteriana y antifúngica de compuestos polifenólicos de plantas típicas del semidesierto mexicano. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México, 60 pp.
- Castillo, F., D. Hernández, G. Gallegos, M. Mendez, R. Rodríguez, A. Reyes and C.N. Aguilar. 2010. *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. Ind. Crops Prod. 32:324-328.
- Castro, R.M. 1985. Evaluación de *Flourensia cernua* sobre hongos causantes del damping off. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México, 120 p.
- Cavazos, C.O.E. 1984. Control químico de *Flourensia cernua* DC. en pastizal mediano abierto. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 121 p.
- Cháves, B.A. 2008. Boletín: extractos vegetales con efecto fungicida, insecticida o nematocida. Ministerio de agricultura y ganadería. Agencia de servicios agropecuarios de coronado. Disponible en línea: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00146.pdf>. Revisado 25-05-14.
- Chávez, T.L., C.F. Díaz, R.G. Escalante y M.E. Estrada. 2008. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la gentamicina en cultivos de *Echerichia coli*. Journal Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana (J. CIMEL.) 13:45-48.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2006. Capital natural y bienestar social. Editorial Redacta México. 71 p.

- COTECOCA (Comisión Técnico Consultiva para la Determinación de los Coeficientes de agostadero). 1979. Coahuila, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulico, México. 255 p.
- Contreras, A.M.E., C.F.D. Hernández, A.A. Sánchez, M.G. Gallegos y D. Jasso de Rodríguez. 2011. Actividad fungicida de extractos de *Cowania plicata* Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra *Colletotrichum coccodes* Wallr. Hunges. Rev. Agr. Nue. Époc 8:6-13.
- Cooke, D. E. L.; V. Young, P. R. J. Birch, R. Thoth, F. Gourlay, J. P. Day, S. F. Carnegie and J. M. Duncan. 2003. Phenotypic and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* populations in Scotland (1995-1997). Plant Phys. 52:181-192.
- Correl, D.S. and M.C Johnston. 1970. Manual of the vascular plants of Texas. Texas Research Fundation, Ranner, Texas 1881 p.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 10:564-582.
- Cueto, W.M.C., M.C. Rivas, G.M.G. Alanís, C.A. Oranday, G.C.A. Amaya, G.A. Núñez, G.J.A. Samaniego and R.P. Cano. 2010. Antifungal properties of essential oil of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Rev. Mex. Micol. 31:29-35.
- Dalvie, M., E. Cairncross, A. Solomon and L. London. 2003. Contamination of rural surface and ground water by endosulfan in farming areas of the Western Cape, South Africa. Environ. Health. 2:1-15.
- Dayan, F.E. and M.R. Tellez. 1999. Phytotoxicity of taro (*Flourensia cernua* DC). J. Allelop. 6:1-12.
- Delbón, N., M.T. Cosa y G. Bernardello. 2011. Exomorfología y anatomía de órganos vegetativos aéreos en especies de *Flourensia* D.C. (Astereaceae) con importancia fitoquímica. Acta Bot. Bras. 26:2-10.

- De León, M.A., A. Sáenz, C.D. Jasso, R. Rodríguez, A. Pandey and C.N. Aguilar. 2013. Fermented *Flourensia cernua* extracts and their *in vitro* assay against *Penicillium expansum* and *Fusarium oxysporum*. Food Technol. Biotechnol. 51:233-239.
- Díaz, S.H. 1985. Control de hojásén (*Flourensia cernua* DC.) con diferentes diseños de riel en el norte de Zacatecas. México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 113 p.
- Díaz, N.G.N., M.C. Carpinella and S.M. Palacios. 2009. Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia oolepis* and isolation of pinocembrin as its active principle compound. Biores. Tech. 100:3669-3673.
- Díaz, D.A., C.F.D. Hernández, C.R.E. Belmares, M.G. Gallegos, H.R. Rodríguez y G.C.N. Aguilar. 2013. Efecto de extractos de *Larrea tridentata* y *Flourensia cernua* en el desarrollo de plantas de tomate inoculadas con *Phytophthora capsici*. Agrar. 10:49-58.
- Dillon, M.O. 1976. Two species o *Flourensia* (Asteraceae Heliantheae) from North Central México. Southwest. 21: 145-149.
- Dillon, M.O., T.J. Mabry, E. Besson, M.L. Bouillant and J. Chopin. 1976. New flavonoids from *Flourensia cernua*. Phytochem. 15:1085-1086.
- Dillon, M.O. and T.J. Mabry. 1977. Flavonoid aglycones from *Flourensia*. Phytochem. 16:1318-1319.
- Dixon, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. Nature 411: 843-847.
- Do Amaral, D.O.J., M. Magalhaes, L. Vilela and M. Vanusa. 2008. Differential gene expression induced by salycilic acid and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* infection in tomato. Pesq. Agrop. Bras. 43:1017-1023.

- Domínguez, X.A., S. Escarria and D. Butruille. 1973. Dimethyl-3-4-Kaempferol de *Cordia boissieri*. *Phytochem.* 12:724-725.
- Donli, P. and H. Dauda. 2003. Evaluation of aqueous *Moringa* seed extract as a seed treatment biofungicide for groundnuts. *Pest. Manage. Sci.* 59:1060-1062.
- Encarnación, D.R., E.J. Agúndez, A. García, G. Delgado, S.G.M. Salinas y F.S. Said. 2006. Two new cassane-tupe diterpenes from *Calliandra californica* with antituberculosis and cytotoxic activities. *Planta Med.* 72:757-761.
- Engelhard, A. 1986. Greenhouse evaluation of soil-applied fungicides for *Fusarium* wilt of chrysanthemum. *In: Hickey, K.D. (Ed.) Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens* 30-31 pp.
- Estell, R.E., D.M. Anderson and K.M Havstad. 1994. Effects of organic solvents on use of tarbush by shepp. *J. Chem. Ecol.* 20:1137-1142.
- Estell, R., M. Tellez, E. Fredrickson, D. Anderson, K. Havstad and M. Remmenga. 2001. Extracts of *Flourensia cernua* reduce consumption of alfalfa pellets by sheep. *J. Chem. Ecol.* 27:2277-2257.
- Faini, F., C. Labbe, I. Salgado and J. Coll. 1997. Chemistry, toxicity and antifeedant activity of the resin of *Flourensia thurifera*. *Biochem. System. Ecol.* 25:189-193.
- FAOSTAT (Statistics Organization of the United Nations Food and Agriculture). 2012. Food and Agricultural commodities production. Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Revisado 30-12-2012.
- Ferrer, A. 2003. Pesticide poisoning. *Annales Sis. San Navarra.* 26:155-171.
- Flores, F., E. González, M. Fernández, M. Villafranca, M. Socías y M. Ureña. 2002. Organic compounds in the environment. Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of Imidacloprid in soil. *J. Environ. Qual.* 31:880-888.

- Flores, P., J.M. Navarro, M. Carvajal, A. Cerdá and V. Martínez. 2003. Tomato yield and quality as affected by nitrogen source and salinity. *Agron.* 23:249-256.
- Frank, T. J. 1996. Molds, mycotoxins and feed preservatives in the feed industry. Departmente of Poultry Science Nort Carolina State University. Raleigh, Norh Carolina, USA 25 p.
- Fredrickson, E.L., R.E. Estell and M.D. Remmenga. 2007. Volatile compounds on the leaf surface of intact and regrowth tarbush (*Flourensia cernua* DC) CANOPIES. *J. Chem. Ecol.* 33:1867-1875.
- Freemark, K. and C. Boutin. 1995. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: A review with special reference to North America. *Agr. Ecosyst. Envir.* 52:67-91.
- Frost and Sullivan. 2013. European Biopesticide Market. Disponible en línea: www.frost.com. Revisado 29-11-13.
- Galván, A. R. 2005. Actividad biológica de extractos de hojasén (*Flourensia cernua* D.C.) sobre *Fusarium* sp. *Rhizotonia* sp. *Phytophthora* sp. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 127 p.
- 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 (*Lycopersicum esculentum*). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 93 p.
- Gamboa, A.R., C.F.D. Hernández, R.E. Guerrero y A.A. Sánchez. 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojasén (*Flourensia cernua* DC.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:13-18.

- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (adaptada para la República Mexicana). Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México, México D.F. 246 pp.
- García, E.R., P.M. Cordobilla, S.M. Vega y B.B. Tlaltal. 1997. Alelopatía y control de enfermedades de la raíz en jitomate con la adición al suelo de gobernadora (*Larrea tridentata*), Colegio de Postgraduados. Avances en la investigación 72-74 p.
- García, C.E.A., V.M.Y. Quezada, L.J. Moreno, H.G. Sánchez, M.E. Moreno y R.M.C.J. Pérez. 2006. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez [*Carya illinoensis* (F.A. Wangenh) K. Koch]. Rev. Mex. Fitopatol. 24:8-12.
- Garza, L.J.G., C.G. López y R.V. González. 1996. Evaluación *in vitro* de la resina de gobernadora (*Larrea tridentata*) contra *Rhizoctonia solani*, patógeno de papa. Colegio de Postgraduados. Avances en la investigación 24-27.
- Gay, C.W., D.D. Dwyer and R.E. Steger. 1970. New México range plants. Circ. No. 374. New México, State Univ. Unites States of América. 85 p.
- Gnabre, J.N., J.L. Brady and D.J. Clanton. 1995. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription and replication by NDA sequence-selective plant lignan. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A. 92:11239-11246.
- González, E.M. 1975. Distribución especial de la vegetación y su interpretación sucesional en el Norte del estado de Zacatecas. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. Estado de México. 263 p.
- González E.M. 1984. Las plantas medicinales de Durango. Cuadernos de Investigación Tecnológica 1:1–115.

- González, M.S., L.M. Flores, M.A. Benavides y O.A. Flores. 2011. Actividad inhibitoria del extracto de *Heliopsis longipes* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Rev. Mex. Fitopatol. 29:146-153.
- Goodwin, S.B., L.J. Spielman, J.M. Matuszak, S.N. Bergeron and W.E. Fry. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and central México. Phytopath. 84:1224-1227.
- Gordon, T.R. y R.D. Martyn. 1997. The Evolutionary Biology of *Fusarium oxysporum*. Annual Rev. Phytopath. 35:111-128.
- Grainge, M. and S. Ahmed. 1988. Handbook of plants whit pest control properties. John Wiley. Chichester, West Sussex. 470 p.
- Granados, S.D., G.A. Sánchez, V.R.L. Granados y D.L.R.A. Borja. 2011. Ecología de la vegetación del desierto Chihuahuense. Rev. Chap. 17:111-130.
- Guerrero, R.E., G.S. Solís, C.F.D. Hernández, O.A. Flores, L.V. Sandoval y C.D. Jasso. 2007. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. Rev. Mex. Fitopatol. 25:48-53.
- Guerrero, L.A. 2012. Evaluación de aceites esenciales de *Lippia organoides* en el control de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp. y *Colletotrichum* sp.) en el cultivo de Ají cayena (*Capsicum annum*). Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 79 p.
- Hernández, C.F.D., R.R. De la Garza, M.G. Gallegos, C.E. Padrón, A.A. Sánchez y S.R.H. Lira. 2005. Efectividad biológica de bacterias rizosféricas esporuladas sobre el complejo de hongos de la marchitez del chile. Phytion. Int. J. Exp. Bot. 2005:171-180.

- Hernández, A.N., S. Bautista y M.G. Velázquez. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Rev. Fitotec. Mex.* 30:119-123.
- Hernández, M.H., B. Goettsch, H.C. Gómez y T.H. Arita. 2008. Cactus species turnover and diversity along a latitudinal transect in the Chihuahuan Desert Region. *Biodiv. Cons.* 17:703–720.
- Himejima, M., K. Hobson, T. Otsuka, D. Wood y I. Kubo. 1992. Antimicrobial terpenos from oleoresin of ponderosa pine tree *Pinus ponderosa*: A defense mechanism against microbial invasión. *J. Chem. Ecol.* 18:1809-1818.
- 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 J. Pharm. Pharmacol.* 3:58-62.
- INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. 2013. Disponible en línea: <http://www.inifap.gom.mx>. Revisado 15-05-2014.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides, past, present and future. *In: Arnason, J.J., B.R. Philogene and P. Morand (Eds) Insecticides of Plant Origin, ACS Symposium Series 387:1-10.*
- Jasso de Rodríguez, D., C.D. Hernández, S.J.L. Angulo, G.R. Rodríguez, Q.J.Á. Villarreal and S.R.H. Lira. 2007. Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizotocnia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Ind. Crops Prod.* 25:111-116.
- Jasso de Rodríguez, D., G.R. Rodríguez, C.F.D. Hernández, G.C..N. Aguilar, G.A. Sáenz, Q.J.Á. Villarreal and Z.L.E. Moreno. 2011. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Ind. Crops Prod.* 34:960-966.

- Jasso de Rodríguez, D., C.F.D. Hernández, G.S. Solís, G.R. Rodríguez y J. R.M. Rodríguez. 2012. *Flourensia cernua* DC: A Plant from Mexican Semiarid Regions with a Broad, Integrated Pest Management and Pest Control. *In: Current and Future Tactics*, Dr. Sonia Soloneski (Ed.) Integrated Pest Management and Pest Control-Current and Future Tactics 639-651 pp.
- Jiménez, D.F., M.Y.I. Chef, P.A. Vega y G.J.A. Samaniego. 2005. Efectividad de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* en tomate. Memorias XXXII Congreso Nacional de Fitopatología. VII Congreso internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen, C-48.
- Jiménez, A.M.A., J.G. Cornejo y D.R. León. 2010. Las plantas medicinales mexicanas como fuente de compuestos antimicobacterianos. *Rev. Mex. Cien. Farm.* 41:22-29.
- Jones, Q. and F.R. Earle. 1966. Chemical analysis of seed II: Oil and Protein content of 759 species. *Econ. Bot.* 20:127-155.
- Jones, J.B. 1999. Tomato plant culture in the field, greenhouse and home garden. Editorial CRC. USA. 199 pp.
- Juárez, L.P., B.R. Castro, L.T. Colinas, V.P. Ramírez, V.M. Sandoval, D.W. Reed, Z.L. Cisneros and S King. 2009. Evaluación de calidad de frutos de siete genotipos nativos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*). *Rev. Chap. Hort.* 15:5-9.
- Kingston, D.G.I., M.M. Rao, T.D. Spittler, R.C. Pettersen and D.L. Cuulen. 1971. Sesquiterpenes from *Flourensia cernua*. *Phytochem.* 14:2033-2037.
- Korthuis, S.L. 1988. *Flourensia cernua*. *In: Fire Effects Information System*, [Online]. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky mountain research station, fire sciences Laboratory (Producer). Disponible en línea: <http://www.fs.fed.us/database/feis/>. Revisado 20-08-2013.

- Lagunes, T.A., S.C. Arenas y H.C. Rodríguez. 1984. Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas. CONACYT-CP-UACHDGSV. México, D.F. 203 p.
- Language R. 2012. The R Foundation for Statistical Computing. Developed at Bell Laboratories (formerly AT&T, now Lucent Technologies) by John Chambers and colleagues. Disponible en línea: <http://www.r-project.org>. Revisado 05-01-2012.
- Lara, H.M.E., E.R.G. García, A.L.A. Valdez y B.B. Tlalpal. 1997. Efecto de la gobernadora sobre patógenos radicales. Avances de la Investigación. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 74-75 p.
- León, G.H.M. y D.M. Arosemena. 1980. El cultivo del tomate para consumo fresco en el Valle de Culiacán. Edición original. México. 183 p.
- Leroux, P. 2003. Mode of action of agrochemical towards plant pathogens. *Comp. Rend. Biolog.* 326:9-21.
- Loach, K. 1988. Controlling environmental conditions to improve adventitious rooting. *In: Davis T.D., B.E. Haissig and N. Sankhla (Eds). Adventitious Root Formation in Cuttings.* BE Dioscorides Press, EE. UU. 248-273 p.
- López E.R. y A.A. Sánchez. 1988. Evaluación de extractos de crucíferas sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani in vitro*. Memorias de XV Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Veracruz, México. 107 p.
- López, B.A., B.S.R. López, B.M.E. Vázquez y H.S.A. Rodríguez. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn, y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos vegetales acuosos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23:183-190.
- Lucíní, E.I., M.P. Zunino, M.L. López and A. Zygadlo. 2006. Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *J. Phytopathol.* 154:441-446.

- Madrigal, S. 2005. Manual teórico práctico para el manejo de plagas con el uso de extractos naturales, San José, Costa Rica, INA, 137 p.
- Maneemegalai, S. and T. Naveen. 2010. Evaluation of antibacterial activity of flower extracts of *Cassia auriculata* L. *Ethnobot. Leafl.* 14:182-192.
- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Segunda Edición. Caracas, Venezuela. 588 pp.
- Marroquín, J., G. Borja, R. Velázquez y J.A. de la Cruz. 1964. Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Publicación Especial 2, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 165 p.
- Marshall, D.S. y M.C. Rush. 1980. Infection cushions formation on rice sheaths by *Rhizoctonia solani* [Histological aspects of cultivar resistance]. *Phytopath.* 70:947-950.
- Martínez M. 1989. Las Plantas Medicinales de México. 6ª.Ed. Botas, México, 488 p.
- Martínez, M. 1993. Las plantas medicinales de México. Ed. Botas. México, D. F. 656 p.
- Martinez, Z.J. 2006. Actividad de extractos vegetales de *Flourensia cernua* D.C. contra *Brevcorine brassicae* L. y de *Flourensia cernua* D.C., *Agave lechuguilla* Torr., *Azadirachta indica* L., *Argemone Mexicana* L. y *Larrea tridentata* D.C. contra *Sitophilus oryzae* L. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila México.
- Mata, R., R. Bye, E. Linares, M. Macias, C.I. Rivero, O. Pérez and B. Timermann. 2003. Phytotoxic compounds from *Flourensia cernua*. *Phytochem.* 64:285-291.

- Méndez, M., R. Rodríguez, J. Ruíz, A.D. Morales, F. Castillo, C.F.D. Hernández and C.N. Aguilar. 2012. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Ind. Crops. Prod.* 37:445-450.
- Mendoza, Z.C. y B. Pinto. 1983. Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 311 p.
- Mendoza, L.U.A. 1995. Evaluación de quince variedades precoces e intermedias de jitomate. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 121p.
- Mendoza, Z.C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Imprenta Universitaria de la Universidad Autónoma de Chapingo 1^a Edición México. 85 p.
- Mes, J.J., A.A. Van Door, J. Wijbrandi, G. Simons, B.J.C. Cornelissen and M.A. Haring. 2000. Expression of the *Fusarium resistance* gene 1-2 colocalizes with the site of fungal containment. *J. Plant* 23:183-194.
- Messiaen, C., D. Blancard, F. Rouxel y R. Lafon. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Editorial Mundi-Prensa Madrid, España. 576 p.
- Miranda, F. y X.E. Hernández. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 28: 29-178.
- Miyakado, M., T. Kato, N. Ohno y T.J. Mabry. 1976. Pinocembrin and (+) β -eudesmol from *Hymenoclea monogyra* and *Baccharis glutosina*. *Phytochem.* 15:846.
- Molina, S.G.M., G.M.C. Ramos, V.J. Vargas, C.B.D. Mata, M.P. Becerril and F.S. Said. 2006. Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch. Med. Rese.* 37:45-49.

- Montes, B.R., C.V. Cruz y D. Peralta. 1990. Extractos vegetales para el control de la roya del frijol *Uromyces appendiculatus*. *Agrocien.* 1:99-106.
- Montes, B.R. y M.G. Martínez. 1992. Control de la cenicilla *Erysiphe cichoracearum* y el mildiú de la calabacita *Pseudoperonospora cubensis* mediante extractos vegetales en Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca. *Rev. Mex. Fitopatol.* 10:86-191.
- Montes, B.R. y S.A. Peralta. 1993. Tizón del crisantemo en Oaxaca y sus posibilidades de control con extractos vegetales. *Rev. Mex. Fitopatol.* 11:148-153.
- Montes, B.R. y L. Fraire. 1994. Retraso en el desarrollo epidémico de *Phytophthora infestans* en jitomate con el uso de extractos vegetales. *Memorias VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología.* Santiago, Chile. Resumen 55.
- Montes, B.R. 1996. Productos Naturales de origen Vegetal para el combate de Fitopatógenos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 14: 1-7.
- Montes, B.R., C.V. Cruz, M.G. Martínez, G.G. Sandoval, L.R. García. D.S. Zilch, L.L. Bravo. T.K. Bermúdez, M.H.E. Flores y M.M. Carvajal. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Rev. Mex. Fitopatol.* 18:125-131.
- Montes, B.R. y Flores, M. H. E. 2001. Combate de *Fusarium thapsinum* y *Claviceps africana* mediante semillas de sorgo tratadas con productos naturales. *Man. Int. Plag.* 61:23-30.
- Moorby, J. 1981. *Transport systems in plants.* Lonman and Tchnical. New York, EUA. 169 p.
- Moreno, L.S., M.S.M. Salcedo, A.M.L. Cárdenas, P.J.L. Hernández y G.M.A. Núñez. 2012. Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de *Aspergillus flavus* Growth. *Polibot.* 34:171-184.

- Müller, C.H. 1940. Plant succession in the *Larrea-Flourensia* climax. *Ecol.* 21:206-212.
- Muñoz, R.J.J. 2009. Manejo del cultivo de tomate en invernadero. *In:* Castellanos, J.Z. (Ed.) Manual de producción de tomate en invernadero. Editorial Intagri. México. 458 p.
- Nisen, A., M. Grafiadellis, R. Jiménez, G. La Malfa, G.P.S. Martínez, A. Monteiro, H. Verlodt, O. Villele, C.H. Zabeltitz, I.U. Denis and W.O. Baudoin. 1990. Protected cultivation in the Mediterranean climate. FAO. Plant production and protection paper núm. 90. Rome, Italy.
- Nuez, V.F. 2001. El cultivo del tomate. Editorial Mundi- Prensa. Barcelona, España. 538 p.
- Ochoa, F.Y.M., C.E. Cerna, F.J. Landeros, C.S. Hernández y O.J.C. Delgado. 2012. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *J. Exp. Bot.* 81:69-73.
- Onawunmi, G., W. Yisak and E. Ogunlana. 1984. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Staf. *J. Ethno-Pharmacol.* 12:279-286.
- Ortega, F.S., J. Márquez, H. Valdés y J.H. Paillán. 2001. Efecto de cuatro láminas de agua sobre el rendimiento y calidad de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. FA-144) de invernadero producido en otoño. *Agric. Téc.* 61:479-489.
- Palacios, N.M. and T.L. Moreno. 2004. Diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa, México. *Salud Publ. Mex.* 46:286-293.
- Pantástico, E.D. 1984. Fisiología de la posrecolección, manejo y recolección de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Segunda impresión. Editorial CECSA. México. 633 p.

- Paulo, A.O. 2001. La fusariosis vascular del tomate. *In*: Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall y T.A. Zitter (Eds) Plagas y enfermedades del tomate. Editorial Mundi-Prensa. España. 141 p.
- Pelczar, M.J., R.D. Reid y E.C. Chan. 1990. Microbiología. Editorial McGraw Hill. México. 269 p.
- Peñuelas, J., M.C. Ribas and L. Giles. 1996. Effects of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by the alternative oxidase. *J. Chem. Ecol.* 22: 801-805.
- Peralta, B.J.E. 2006. Evaluación de la actividad de extractos de hojases (*Flourensia cernua* D.C) *in vitro* en el control de las bacterias fitopatogenas *Xanthomona campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye, *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye y *Pseudomonas cichorri* (Swingle) Stapp. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 135 p.
- Pettersen, R.C., D.L. Culle, T.D. Spittler and D.G.I. Kingston. 1975. The crystal and molecular structure of flourensadiol, a natural product sesquiterpene isolated from the west Texas shrub. *Acta Cryst.* 31:1124-1127.
- Plotto, A., D.D. Roberts and R.G. Roberts. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *ISHS. Acta Hort.* 22:279-283.
- Portillo, H.A.I. 2005. Aislamiento y purificación de extractos de *Cestrum nocturnum* por cromatografía y evaluación de su efecto antifúngico en *Fusarium* spp. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana 180 p.
- Primo, Y.E. 1995. Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. Editorial Reverté. Tomo II. España. 1194 p.

- Raffo, A., C. Lonardi, V. Fogliano, P. Ambrosino, M. Salucci, L. Gennaro, R. Bugianesi, F. Giuffrida and G. Quaglia. 2002. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *J. Agric. Food Chem.* 50:6550-6556.
- Ramírez, M.L.A., B.L.E. García, H.C. Rodríguez, H.E. Morales y R.A.E. Castro. 2001. Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophora aripa eloida*. *Man. Int. Plag.* 60:50-56.
- Ramírez, L.M.R. y C.J.L. Jacobo. 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noreste de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20:168-173.
- Rao, M.M, D.G.I. Kingston and T.D. Spittler. 1970. Flavonoids from *Flourensia cernua*. *Phytochem.* 9:227-228.
- Reyes, M.G., M.J. Torres, M.D. Maggi, J.M. Marioli, R.R. Gil, V.E. Sosa, M.L. Uriburu and M.C. Audisio. 2013. *In vitro* inhibition of *Paenibacillus larvae* by different extracts and pure compounds from *Flourensia* spp. *Ind. Crops Prod.* 50:758-763.
- Riquelme, F. 2001. Postcosecha. *En: El cultivo del tomate*. Nuez, F. (Ed). Editorial Mundi- Prensa. Madrid España. 793 p.
- Rivas, Z., R. Márquez, F. Troncone, J. Sánchez, M. Colina y P. Hernández. 2005. Contribución de principales ríos tributarios a la contaminación y eutrofización del Lago de Maracaibo. *Cien.* 13:68-77.
- Rodríguez, R.R., R.J.M. Tabares, R.J.M. y S.J.J.A. Medina. 2001. Cultivo moderno del tomate. Editorial Mundi-Prensa. España. 255 p.
- Rodríguez, D.A. y J.O. Montilla. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Man. Int. Plag.* 63:46-50.

- Rodríguez, D.A y M.E. Sanabria. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que las causan. *Intercien.* 30:739-744.
- Rodríguez, P.A.T., A.M.A. Ramírez, B.S. Bautista, T.A. Cruz y D. Rivero. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Rev. Cient. UDO Agr.* 12:91-96.
- Rundel, P.W., S.M. Rosul and C.A. González. 1994. Resource availability and hervvory in *Larrea tridentata*. In: M. Arianoutsoy and R. H. Graves, (Eds). *Plant-animal Interactions in Mediterranean Type Ecosystems*, Kluwer Academic Publishers. Netherl. 114-115 p.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Editorial Limusa. México, D.F. 432 p.
- Saeedi, G.H. y R. Maldonado. 1982. Potencial de la flora de las zonas áridas. En: *Ciencia y Desarrollo*. Editorial CONACYT México. 47:98-110.
- Salazar, H.F.J. 1985. Evaluación de la actividad fungicida de resina etanólica de *Drymaria arenariodes* HBK sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 135 p.
- Salazar, H.F J., E. R. García y B.B. Tlapal. 1990. Efecto de la incorporación de residuos secos de las plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*) y epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en suelos infectados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. *Rev. Mex. Fitopatol.* 9:102-104.
- Salazar, R., M.E. Pozos, P. Cordero, J. Pérez, M.C. Salinas and N. Waksman. 2008. Determination of the Antioxidant Activity of Plants from Northeast Mexico. *Pharmac. Biol.* 46:166-170.

- Salgado, G.R., T.J. Molina, M.J.E. López y L.P.D. Loeza. 2008. Efecto del extracto crudo y los compuestos bioactivos de *Heliopsis longipes* sobre la incidencia de la antracnosis, microcorrizas y nodulación del frijol. *Agrocien.* 42:679-688.
- Sanabria, M.E., D. Rodríguez y J.L. Rodríguez. 2006. inhibición de hongos fitopatógenos con extractos de *Phyllanthus niruri* L. y *Lippia origanoides* (H.B.K.). Memorias VII Congreso SEAE. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Venezuela.
- Sánchez, C.M.A. 1998. Manejo de Enfermedades del Tomate. Memoria del curso del INCAPA Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en Tomate, Chile y Papa. Santiago, Chile, 24 pp.
- Sandoval, V.S.A., S.M.A. Apodaca y B.J.A. Quintero. 1995. Efecto del extracto de semilla de toronja contra *Rhizoctonia solani* y *Erwinia carotovora* "in vitro". XXII Congreso Nacional de Fitopatología, A. C. Guadalajara, Jalisco, México. Resumen 88.
- Sandoval, V. L. 2005. Actividad antifúngica de extractos de hojásén (*Flourensia cernua* D.C.) sobre *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Collectotrichum gloesporoides* Penz. y Saccardo, *Penicillium digitatum* Saccardo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. 120 p.
- Santiago, S.J., H.C. Rodríguez, A.L.D. Ortega, M.D. Ochoa y G.S. Infante. 2009. Repelencia de adultos de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* West) con aceites esenciales. *Man. Plag. Fitosan.* 13:11-14.
- Santos, M., F. Diánez, M. Cara y J.C. Tello. 2004. Tomates: Producción y Comercio. Ediciones Horticultura. España. 110 p.
- Sarukhan, J. 1995. Diversidad Biológica. Universidad de México 536:3-10.

- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>. Revisado 29-12-12.
- Silva, S.R.E. 1980. Estado actual de los recursos naturales renovables de los ejidos El Prado y San Juana del Prado, municipio de Galeana Nuevo León, México. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N. L., México. 75 p.
- Silva, M.P., L.A. Piazza, D. López, R.M.J. López, M.D. Turco, J.J. Cantero, M.G. Tourn and A.L. Scopel. 2012. Phytotoxic activity in *Flourensia campestri* and isolation of (-)- hamanasic acid A as its active principle compound. *Phytochem.* 77:140-148.
- Slimestad, R. and M.J. Verheul. 2005. Seasonal variations in the level of plant constituents in greenhouse production of cherry tomatoes. *J. Agric. Food Chem.* 53:3114-3119.
- Smith, I.M., J. Dunez, R.A. Lelliot, D.H. Phillips y S.A. Archer. 1988. Manual de enfermedades de las plantas. Editorial Mundi-Prensa. España. 337 p.
- Solís, G.S. 2002. Efecto del extracto vegetal de *Heliopsis longipes* sobre hongos fitopatógenos e índices de crecimiento del cultivo de papa. Tesis Maestría Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 44 p.
- Solís, G.S., C.A. Galván, C.F.D. Hernández, R.E. Guerrero y C.D. Jasso. 2005. Actividad biológica de extractos de hojasén (*Flourensia cernua*) sobre los patógenos del suelo *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*. Memorias XXXII Congreso Nacional de Fitopatología. VII Congreso internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen, C-43.
- Souza, E.L., T.L.M. Stamford and E.O. Lima. 2006. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. *Braz. J. Microbiol.* 37:527-532.

- Steiner, A.A. 1973. The selective capacity of tomato plants for ions in a nutrient solution. *In: Proceedings 3rd International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, The Netherlands 43-53 pp.
- Tanaka, Y.T. and S. Andomuro. 1993. Agroactive compound of microbial origin. *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 57-87.
- Taylor, M.D., S.J. Locascio and M.R. Alligood. 2002. Incidence of blossom-end rot and fruit firmness of tomato affected by irrigation quantity and calcium source. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 115:211-214.
- Tellez, M., R. Estell, E. Fredrickson and K. Havstad. 1997. Essential oil of *Flourensia cernua* DC. *J. Essent. Oil Res.* 9:619-624.
- Tellez, M., R. Estell, E. Fredrickson, J. Powell, D. Wedge, K. Schrader and M. Kobaisy. 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L): volatile constituents and antifungal, antialgal and antitermite bioactives. *J. Chem. Ecol.* 27:2263-2285.
- Tello, J.C. y A. Lacasa. 1987. La podredumbre del cuello y de las raíces, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, nueva enfermedad en los cultivos de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) españoles. *Bol. San. Veg. Plagas* 14:307-312.
- The American Phytopathological Society. 2001. *Plagas y enfermedades del tomate*. Editorial Mundi-Prensa. España. 15 p.
- Thuille, N. 2003. Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 206: 1-5.
- Torres, D. y T. Capote. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: usos del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosist.* 13:2-6.

- Towers, G.H.N., G.F.Q. Shan and J.C. Mitchell. 1975. Ultraviolet mediated antibiotic activity of thiophene compounds of *Tagetes*. *Phytochem.* 14: 2295-2296.
- Towers, G.H.N., A.R. Picman and E. Rodríguez. 1979. Formation of adducts of parthenin and related sesquiterpene lactones with cysteine and glutathion. *Chem.-Biol. Interact.* 28:83-89.
- Towers, G.H.N., W.D. Macrae, D.A.J. Irwin and T. Bisalputra. 1980. Membrane lesions in human erythrocytes induced the naturally occurring compounds alfa-terthienyl and phynylheptatryne. *Photobiochem. Photobioph.* 1:309-318.
- Triano, S.R. y D.A. Clair. 1995. Processing tomate germplasm with improved fruit soluble solids content. *Hort. Sci.* 30:147-148.
- Uriburi, M.L., J.R. De la Fuente, J. Palermo, R.R. Gil and V.E. Sosa. 2004. Constituents of two *Flourensia* species. *Phytochem.* 65:2039-2043.
- Uriburi, M.L., R.R. Gil, V.E. Sosa and J.R. De la Fuente. 2007. Prenylflavonoids from *Flourensia fiebrigii*. *Phytochem.* 68:1295-1299.
- Vaillant, F.D., C.C. Romeu, R.E. Ramos, G.M. González, O.R. Ramírez y P.J. González. 2009. Efecto inhibitorio *in vitro* de cinco monoterpenos de aceites esenciales sobre un aislados de *Rhizoctonia solani* en papa (*Solanum tuberosum* L.) *Fitosan.* 13:197-200.
- Valadez, L.A. 1997. Producción de Hortalizas. Editorial Limusa. 6^a imp. México. 298 p.
- Valle, C.M.E. y P.G. Rodríguez. 2011. Evaluación de vitamina C por HPLC en el desarrollo postcosecha del tomate (*Solanum lycopersicum* v. Dominator). *Rev. ECIPERÚ* 8:48-53.

- Vallejo, C.A. 1999. Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 136 p.
- Vatansever, L., M. Gülmez, N. Oral, A. Güven and S. Otlu. 2008. Effects of sumac (*Rhus coriaria* L), oregano (*Oreganum vulgare* L) and lactic acid on microbiological decontamination and shelf-life of raw broiler drumsticks. The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas. Kafkas Üniv Vet Fak Derg.14: 211-216.
- Vázquez, M.M., G.R. Rodríguez y G.J. Silva. 1996. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento de hongos patógenos de la raíz. Memorias del XXIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Jalisco, México. 44 p.
- Velázquez, G.A., E.M.A Escalante, E.R.S. García, F.J.A. Carrillo y O.C. Guerrero. 2005. Actividad antifúngica de extractos con metabolitos secundario de semillas de *Moringa oleifera* para el control de *Rhizopus stolonifer*. Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, México. Resumen L-40.
- Ventura, S.J., P.S. Saucedo, C.R. Belmares, C.A. Aguilera, N. Heredia and C.N. Aguilar. 2006. New Effective Alternatives of Control of Bacterial and Fungal Foodborne Pathogens. International Congress on Food Safety. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, NL, México.
- Villarreal, J.Á. y J. Valdés. 1992-1993. Vegetación de Coahuila, México. Rev. Man. Past. 6:9-18.
- Vines, R. A. 1960. Trees shrubs and Woody Vines of the south west. University of Texas Press. Austin, Texas, 1104 p.
- Wall, C.M., J.W. Garvín, J.J. William, Q. Jones and B.G. Schubert. 1961. Survey of plants for steroidal sapogenins and other Constituents. J. Pharm Sci. 50:1001-1043.

- Waterhouse, D., W.J. Carman, D. Schottenfeld, G. Gridley and S. McLean. 1996. Cancer incidence in the rural community of Tecumseh, Michigan: a pattern of increased lymphopietic neoplasms. *Cancer* 77:763-770
- Whalen, M.M., S. Wilson, C. Gleghorn and B.G. Loganathan. 2003. Brief exposure to triphenyltin produces irreversible inhibition of the cytotoxic function of human natural killer cells. *Envir. Rese.* 92:213-220.
- WHO (World Health Organization). 2005. Number of work-related accidents and illnesses continues to increase. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr18/en/>. Revisado 18-04-2014.
- Wilson, C.L., A. El Ghaouth and M.E. Wisniewski. 1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticides. *Rev. Mex. de Fitopatol.* 17:49-53.
- Witiak, D., D. Patel and Y. Lin. 1967. Nuclear magnetic resonance. Influence of substituents on the long-range spin-spin coupling constant between benzylic and ring protons in the orcinol series. *J. Am. Chem. Soc.* 89:1908-1911.
- Wollenweber, E. and V.H. Dietz. 1981. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochem.* 20:869-932.
- Zamora, N.J.F., A.A. Bernal y L.M. Ruiz. 2005. Perfil de alcaloides de semillas de *Lupinus exaltatus* Zucc. (Fabaceae) y la evaluación antifúngica del extracto alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23:124-129.
- Zapata, R., M.E. Sanabria y D. Rodríguez. 2003. Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extracto de Cardón lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert). *Intercien.* 28:302-306.
- Zavala, C.D., I.M.L. Carrillo, S.B. Alvarado y Ch.A.O. Sánchez. 2010. Evaluación de toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de hojásén (*Flourensia cernua*). *Rev. Mex. Cien. Farmac.* 41:50-54.