# ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE ROSA DE CASTILLA (Cowania plicata D. Don.) SOBRE Fusarium oxysporum Schlechtend. Fr. Y DE PISTACHO (Pistacia lentiscus L.) SOBRE Colletotrichum coccodes Wallr. Hunghes.

#### MARIO ENRIQUE CONTRERAS ARREDONDO

## **TESIS**

Presentada como requisito parcial para
Obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Marzo del 2009.

# UNIVERSIDAD AUTONÓMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIRECCIÓN DE POSTGRADO

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE ROSA CASTILLA (Cowania plicata D. Don.) SOBRE Fusarium oxysporum Schlechtend. Fr. Y PISTACHO (Pistacia lentiscus L.) SOBRE Colletotrichum coccodes Wallr. Hunghes.

#### **TESIS**

POR:

#### MARIO ENRIQUE CONTRERAS ARREDONDO

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

### MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

#### **COMITÉ PARTICULAR**

Asesor principal: _	
	Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo
Asesor:	
	Dr. Gabriel Gallegos Morales
Asesor:	
_	MC. Abiel Sánchez Arizpe
	Dr. Jerónimo Landeros Flores
	Director de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Marzo del 2009.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A la **Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"** por esta gran oportunidad brindada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme el apoyo económico para solvencia de este gran esfuerzo.

Al **Departamento de Parasitología** por todas sus valiosas atenciones y oportunidades.

Al **Departamento de Ciencias Básicas** por su siempre incondicional apoyo.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada, en muy especial al L.C.Q. Javier Borjas Ramos por su gran disposición y valiosa participación en este proyecto.

A la Facultad de Ciencias Químicas en especial al Dr. Cristóbal Noe Aguilar González, por su siempre actitud de ayudar a los demás a superarse.

Con gran agradecimiento y respeto a mis asesores **Dr. Daniel Hernández Castillo, Dr Gabriel Gallegos Morales** y **M.C. Abiel Sánchez Arizpe** por sus excelentes y magistrales asesorías, pero sobre todo por su valiosa paciencia por siempre muy eternamente agradecido, muchas gracias.

A todos aquellos que en su momento fungieron como mis maestros y compañeros por sus enseñanzas, amistad y consejos que coadyuvaron en gran parte a hacer este trabajo posible.

#### **DEDICATORIA**

#### A MIS PADRES Y HERMANA:

Por sus siempre pertinentes consejos, apoyo, comprensión y paciencia que nunca me negaron y que me alentaron a seguir hacia adelante hasta la culminación de este muy valioso esfuerzo, infinitamente gracias para ustedes.MIL GRACIAS.

#### **COMPENDIO**

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE ROSA DE CASTILLA (Cowania plicata D. Don.) SOBRE Fusarium oxysporum Schlechtend. Fr. Y DE PISTACHO (Pistacia lentiscus L.) SOBRE Colletotrichum coccodes Wallr. Hunghes.

## POR MARIO ENRIQUE CONTRERAS ARREDONDO

### MAESTRÍA EN CIENCIAS PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

# UNIVERSIDAD AUTONÓMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA.

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo - Asesor

**Palabras claves:** Extractos vegetales, Actividad fungicida, Hongos fitopatógenos de papa.

Hoy en día existen abundantes restricciones para el uso de fungicidas sintéticos, debido a daños irremediables a la salud y al medio ambiente, haciéndolo tóxico para animales y plantas. Una posible alternativa, es la aplicación de agentes de rápida biodegradación como lo son los fungicidas provenientes de extractos vegetales. Debido a ello se evaluaron extractos metanólicos de plantas leñosas de la región como: Rosa de Castilla y

Pistacho, sobre dos especies de fitopatógenos de papa (Solanum tuberosum L.), in vitro contra: Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes. Se reporta la concentración inhibitoria (CI) de los extractos metanólicos en placa de PDA, encontrando que la menor concentración (CI50) fue del extracto de hoja de Pistacho a 2,000ppm y la mayor (CI90) de 16,000ppm para Colletotrichum coccodes, mientras que con los extractos de flor de Rosa de castilla se obtuvo una (CI50) de 3,000 ppm y una (CI90) de 28,000ppm sobre Fusarium oxysporum. Las determinaciones químicas de dichos extractos, indican la presencia de varios compuestos de interés útiles para enriquecer la basta quimiotaxonomía en plantas, sino también nuevos horizontes en investigaciones de principios activos con actividad plaquicida.

#### **ABSTRACT**

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF METHANOLIC EXTRACTS OF ROSA DE CASTILLA (Cowania plicata D. Don.) VS Fusarium oxysporum Schlechtend. Fr. AND PISTACHO (Pistacia lentiscus L.) VS Colletotrichum coccodes Wallr. Hunghes.

BY

#### MARIO ENRIQUE CONTRERAS ARREDONDO

# MASTER IN SCIENCE AGRICULTURAL PARASITOLOGY UNIVERSIDAD AUTONÓMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA.

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo - Advisor

**Key Words:** Vegetal extracts, Fungicide activity, Phytopathogenic fungus from potato.

Today exist many restrictions to the use of sintetic fungicide, has been excessive and unfortunately very necessary the constant applications whit the objetive to produce much more amount to cause too health and ambiental injuries , to be transformed in a toxic too for animals and plants. So this job propose as possible alternative to apply chemical agents of substances of faster bio-degradation as such fungicides of vegetal extracts. The objectives of this

research are to evaluate methanolic extracts of regional woody plans as such: Pistacho, and Rosa de Castilla; on two species of phytopatogen fungus of potato (*Solanum tuberosum L.*) and afterward to proceed to make several chemical analysis of soil and plant to the extract whith better fungicide capacity. In this research the reports are in per cent of inhibition of growing in each bioassay; the better successful extract was the extract of foliar Pistacho plant to a concentration of 2,000 ppm to (CI50) and 16,000 to (CI90), this extract was evaluated chemically through several characterization assays indicate this the presence of several interesting compounds, to get rich a rought chem.-taxonomy in the great classification of plant collection world and open new horizons to others research in the search constants of active principles whit plaguicide activity.

## **ÍNDICE DE CONTENIDO**

Pág	
INTRODUCCIÓN1	
<b>OBJETIVOS</b> 8	}
REVISIÓN DE LITERATURA	)
Datos generales de las plantas empleadas para la elaboración de los extractos	
Pistacho – Pistacia lentiscus	
Taxonomía9	
Descripción9	)
Hábitat10	)
Usos	)
Rosa de castilla – Cowania plicata	
Taxonomía11	
Descripción11	
Hábitat12	
Usos12	
Composición Química12	
Datos generales sobre los hongos fitopatógenos a evaluar con los extractos	
vegetales.	
Fusarium oxysporum:	
Etiología13	į
Epifitiología14	
Sintomatología14	
Hospederos15	;
Importancia clínica16	j
Colletotrichum coccodes:	
Etiología16	
Epifitiología17	
Sintomatología14	
Hospederos15	;

Aspectos generales de componentes de actividad biológica natural de
origen vegetal10
ARTÍCULO: Actividad Antifúngica de extractos metanólicos de Rosa de
Castilla (Cowania plicata D. Don.) sobre Fusarium oxysporum
Schlechtend. Fr. y de Pistacho (Pistacia lentiscus L.) sobre Colletotrichum
coccodes Wallr. Hunghes.
18
MATERIALES Y MÉTODOS
RESULTADOS Y DISCUSIÓN
CONCLUSIONES GENERALES49
RESUMEN
LITERATURA CITADA50
APÉNDICE59

#### **INTRODUCCIÓN**

Desde tiempos inmemorables la humanidad ha dependido de la naturaleza para suplir la demanda de una gran variedad de sustancias útiles en la medicina y en la obtención de venenos, colorantes, insecticidas, fungicidas, etc. esto ha permitido que un gran número de productos derivados de las plantas sean utilizados en la actualidad (Niño *et al.*, 2001).

No se sabe quién descubrió por primera vez el valor de las plantas como posibles plaguicidas pero los Romanos clasificaron los venenos en tres grupos principales: animales, minerales y vegetales (Meza, 1963).

Según Pitman y Jogensen, (2000) se estima que en el mundo existen entre 310,000 y 422, 000 especies de plantas, encontrándose en los bosques tropicales cerca de 125,000 especies (Mendelsohn y Balick, 1995). Dentro de esta vasta diversidad, existen especies vegetales con propiedades de interés para la investigación y el descubrimiento de nuevos productos; sin embargo se calcula que menos del 10% de las plantas han sido evaluadas en la búsqueda de actividad biológica (Harvey, 2000).

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, más del 80% de la población del planeta depende del uso de plantas silvestres para la atención de diversas enfermedades, y como es de esperarse la distribución de esta población no es homogénea, se le concentra en los países menos industrializados y que coincidentemente poseen una importante riqueza florística cultural, (Lara y Alonso, 1996).

El uso de fungicidas tradicionales, empleados para el control de enfermedades, ha tenido graves consecuencias en la salud humana, ocasionando daños de tipo pulmonar. hepático, dérmico, oculares, etc. y a el medio ambiente, así como en el desarrollo de resistencia de los fitopatógenos a estos productos sintéticos lo que ha ocasionado un inevitable incremento en las dosis empleadas para su control y en la contaminación ambiental (Baker *et al.*, 2002, INIFAP, 2000 y Quintero *et al.*, 2002, Tun *et al.*, 1997, Zavaleta, 1987, Apodaca, Romero, 2005 y Gerardo, 1993).

La sociedad en que vivimos camina hacia mayores niveles de bienestar que incluyen cada vez más las exigencias sanitarias y mayores restricciones en los usos de contenidos tóxicos, mediante la explotación de los recursos biológicos y físicos de la naturaleza (Rosado *et al.*, 2005).

Conociendo la gravedad de este problema tanto la comunidad científica como la industrial, ha venido haciendo un enorme esfuerzo para conocer aún más sobre los compuestos químicos de diversas especies vegetales y sus respectivas actividades biológicas (Cruz de Matos, 2000).

Las propiedades antimicrobianas de extractos de varias plantas y sus capacidades fungicidas han sido probadas y validadas in vitro e in vivo, en diferentes cultivos agrícolas. La formación y germinación de esporas, desarrollo micelial e infección, pueden ser inhibidos por extractos naturales de origen vegetal, pueden contribuir a la sustitución de agroquímicos sintéticos, haciendo posible la producción de alimentos con bajos residuos de pesticidas inorgánicos tradicionales (Wedge *et al.*, 2003).

Una buena alternativa lo constituyen los pesticidas orgánicos con base en compuestos orgánicos naturales ya que son biodegradables y desaparecen rápidamente del medio ambiente después de ser aplicados en el campo, además la demanda de pesticidas orgánicos va creciendo significativamente así que a corto y mediano plazo, el problema fundamental no será la falta insuficiente de bioproductos de bajo impacto ambiental y amigables con los ecosistemas. Es importante señalar que las normas internacionales para la protección vegetal excluyen en los criterios de certificación de inocuidad, a una parte importante de los agroquímicos sintéticos utilizados en el agro —

mexicano, simultáneamente con la Unión Europea y los E.U.A, avanzan en programas nacionales de agricultura orgánica, en los cuales el eje tecnológico está dominado por los biopesticidas que permitan el control de los fitopatógenos, ayudando a incrementar la producción y asegurando la inocuidad alimentaria (Montes – Belmont *et al.*, 2000).

Por otra parte, la mayoría de los pesticidas orgánicos e inorgánicos son importados a nuestro país, siendo la fuga de divisas y dependencia extranjera bastante significativa a pesar de que es factible desarrollar y producir agroquímicos orgánicos de bajo impacto ambiental con productos derivados de animales y plantas abundantes de México, los cuales tienen un enorme potencial y hasta la fecha son poco aprovechados (Rodríguez, 2000).

Las plantas durante su constante evolución han podido desarrollar diversos mecanismos de defensa contra los patógenos, uno de ellos es el desarrollo de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, diversos autores han estudiado las posibilidades de aplicación de estos compuestos en forma de extractos acuosos o con diversos solventes para el control de microorganismos fitopatógenos, (Montes, et al, 1990). Las propiedades fungicidas o fungiestáticas de las plantas es una alternativa más para el control de enfermedades y así evitar el uso constante de productos químicos sintéticos que pueden originar la resistencia en los patógenos y la

degradación del ecosistema, además de que su obtención es de más bajo costo que los derivados químicos en algunos casos, (Hernández y Granados, 1992).

Como parte de su metabolismo, las plantas producen una diversidad de compuestos orgánicos, de los cuales la mayoría no parece tener participación directa en su crecimiento y desarrollo. A estos componentes se les conoce como metabolitos secundarios y sus propiedades químicas se han investigado ampliamente desde mediados del siglo XIX (Coteau, *et al.*, 2000). Esta diversidad bioquímica es el resultado de la coevolución entre plantas y otros organismos, incluyendo virus, bacterias, nemátodos, insectos y mamíferos (Duke, 1990, Rausher, 2001, Theis y Lerdau, 2003).

En México se ha investigado la importancia de residuos vegetales y sus extractos en reducir los daños que causan algunos fitopatógenos, sin embargo, son pocas las especies vegetales que se han sometido a este tipo de estudio en relación a su gran diversidad florística (cuarto lugar mundial) existente en el país (García y Montes, 1992 y Toledo, 1994).

Montes *et al.*, (2000) mencionan que se han evaluado un total de 206 especies de plantas de 76 familias diferentes basados en trabajos de Graine y Ahmed, (1988), destacados investigadores de propiedades antifúngicas y de principios activos extranjeros, en el cual solo una cuarta parte de estos no se habían probado contra hongos fitopatógenos, Montes y Flores, (2000)

manifiestan que sus investigaciones se han centrado en plantas que han dado buenos resultados y que se han probado en un total de 26 especies de hongos pertenecientes a diferentes grupos de los cuales se destacan dentro de los Ascomycetes: *Alternaria, Aspergillus, Cercospora, Colletotrichum, Fusarium, Penicillium, Oidium y Stemphylium*, entre otros, en un principio los trabajos se basaron en extractos acuosos a dosis altas (5 y 10 %), esto era en función de la facilidad de su manejo ya que este solvente permitía la liberación de los compuestos polares.

La producción de papa se ve afectada por el ataque de un gran número de hongos fitopatógenos, muchos de los cuales solo producen daños menores; en cambio otros son de mayor agresividad y poder de dispersión, causando daños muy graves, entre los principales hongos de suelo que existen en Coahuila destacan, *Rhizoctonia solani, Fusarium spp y Colletotrichum coccodes,* los cuales pueden llegar a producir serios daños en los rendimientos y en la calidad de los tubérculos, (Hernández *et al.*, 1997).

Recientemente el control biológico en fitopatología ha sido enfocado principalmente a fitopatógenos habitantes del suelo (rizósfera) y al hecho de que las enfermedades más importantes de los cultivos son causados por dichos patógenos este tipo de prácticas para su control, se han vuelto ampliamente aceptadas ya que han demostrado ser muy eficientes, económico, específicos y no es residual (Zavaleta 1994).

Considerando que la caracterización química de las plantas, garantiza el importante entendimiento sobre los mecanismos biosintéticos y su distribución de modo que revelen diversos condicionalismos ecológicos; además de la variación órgano-órgano hay sustancias de gran valor quimiotaxonómico que solo aparecen en un determinado órgano, ya sea raíces, hojas, tallo etc. por lo que además de estudiar la planta entera es deseable estudiar por separado las diferentes partes que la conforman (Domínguez, 1973).

Dado lo anterior, se establecen los siguientes objetivos:

#### **OBJETIVOS:**

- ★ Determinar las actividades biológicas "in vitro" de extractos metanólicos de Rosa de Castilla ( Cowania plicata) y Pistacho (Pistacia lentisco); sobre Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes, respectivamente.
- ★ Determinar la parte vegetativa de la planta (hoja, raíz, flor, etc.) que contenga mayor bioactividad fungicida.
- ★ Determinar la presencia de compuestos químicos de importancia en las partes vegetativas que muestren un mayor actividad fungicida.

**REVISIÓN DE LITERATURA** 

Datos Generales de las Plantas Empleadas para la Elaboración de los Extractos

Planta Pistacho – Lentisco

Nombre Científico: Pistacia lentiscus, L.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Género: Pistacia

Especie: P. lentiscus

Clasificador: (Pistacia lentiscus - INFOJARDIN).

Descripción

Arbusto perennifolio de aproximadamente 4 m. de altura, aunque

ocasionalmente puede llegar hasta los 8 m, crece en forma de mata y a medida

que envejece, desarrolla troncos gruesos y gran cantidad de ramas gruesas y

largas, su corteza es rojiza la que posteriormente con la edad se vuelve gris,

sus hojas son pinadas perennes con 6-12 foliolos coriáceos, lanceolados muy

verdes, sus flores son muy pequeñas de color amarillo a rojo oscuro de 2-3 mm

de diámetro formando grupos apretados, su fruto (drupa) es muy aromático

color rojo y luego negro de 3-4mm de diámetro, sus tallos y hojas son utilizadas

en España como medicina natural por sus propiedades astrigentes además de emplearse como fuente de extracción de una resina aromática para elaborar barnices. Es una planta muy rústica que crece en todo tipo de suelos, con pocos requerimientos, casi sin cuidado, su período de floración es en primavera, de marzo hasta abril (los frutos maduran en otoño), (Standley,1923 y Thomas and Pebles, 1951).

#### Hábitat

Especie típica de climas mediterráneos, su nombre de género es el usado por los romanos para referirse al árbol de los pistachos, aunque en realidad es de origen persa, latinizado a partir del griego pistáke, (Standley, 1923).

#### Usos

Arbusto muy empleado como planta ornametal de casas; aunque en la mayoría de estas especies sean muy tóxicas, (Mottet, 1970).

#### Planta Rosa de Castilla

Nombre Científico: Cowania Plicata D. Don. Sinónimo Rosa Gallica.

Nombre común: Rosa de Castilla, Rosal Castellano, Rosa roja.

Familia: Rosaceae

Subreino: Viridaeplantae

Subphylum: Spermatophytina

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Rosales

Género: Cowania

Especies: Plicata, Alba, Ericaefolia, Ericifolia, Havardia, Mexicana, Stansburiana y Subintegra.

Clasificador: (Rosa de castilla - INFOJARDIN).

#### Descripción

Es un arbusto bajo, alcanza hasta 1 m de alto, sus ramas son rectas y provistas de aguijones, las flores suelen ser solitarias de color rosa o rojo púrpura, que suelen florecer a finales de la primavera o principios del verano, su fruto es muy piloso (Martínez, 1996).

#### Hábitat

Se le encuentra en regiones boscosas y a los lados de los caminos. Euroasiático, aunque también se le encuentra en el norte de África (Marruecos) y en Norte América (Standley, 1923).

#### Usos

Los pétalos se usan como saborizantes en repostería y como sazonador, el cocimiento de los pétalos frescos se usa con éxito en remedios contra diarreas, se usa también como antiséptico y colirio (conjuntivitis), impide el desarrollo de gérmenes intestinales (lombrices) (Curtis, 1974).

#### Composición Química

Contiene aceites esenciales, ácidos málico y tartárico, un glucósido (quercitina), taninos, grasa, resina, azúcar y sales minerales (Martínez, 1996).

Datos generales sobre los hongos fitopatógenos a evaluar con los extractos vegetales.

Fusarium oxysporum, Schlechtend. Fr.

(Marchitez, Cancrosis, Pudriciones de raíz en plantas).

#### Etiología

Una de las enfermedades de mayor importancia económica para el cultivo de la papa es la marchitez por *Fusarium oxysporum* (Sarukham, 1995).

Es la especie más importante del género *Fusarium*; las colonias tiene un aspecto variable dependiendo de la cepa, en general puede variar bastante; el micelio aéreo es inicialmente color blanco y el medio cambia de color a diferentes tonalidades, desde verde hasta violeta o morado oscuro; si abundan los esporoquios, las colonias pueden aparecer cremosas o anaranjadas,. Las microconidias, siempre presentes son de forma oval, mono o bicelulares, se forman en fiálidas cortas sin ramificarse. Las macroconidias son septadas (3-5 septas), las esporas son fácilmente reconocibles por sus esporas en forma de media luna (Romero, 1988) y a menudo tienen una célula basal pedicelada. Las clamidosporas son solitarias o están en cadenas cortas, (Booth, 1971 y Nelson *et al.*, 1983).

El hongo produce tres tipos de esporas, que son asexuales y se pueden producir al mismo tiempo (Melhus y Kent, 1939). Las esporas son hialinas de tipo septado de dos o más células y las microconidias monocelulares, las clamidiosporas son color café oscuro de pared celular gruesa. Las conidias se

desarrollan sobre las hifas en conidióforos cortos y ramificados y se encuentran en un esporodoquio, (Streets, 1978). Las microconidias son unicelulares de forma oblonga y ovoide, simples o en cadenas; las macroconidias son curveadas de una o más células, (Barnett y Hunter, 1987).

#### **Epifitiología**

Fusarium causa un marchitamiento vascular tiene un desarrollo óptimo a 30°C., provocando necrosis en tallo, manchado interno en tubérculo y coloraciones violetas en las hojas (Bouhot, 1981).

Fusarium y Verticillium provocan síntomas de punta morada, daños que son más severos en lugares donde se cultiva papa a temperaturas altas o durante estaciones secas y calurosas, (Guigon, 1994, Hernández, 2000 y Moctezuma, 2005).

#### Sintomatología

El hongo infecta al hospedero por la penetración de la hifa a través de las raíces de las plantas, principalmente por la epidermis y demás rupturas causadas por factores físicos y biológicos (Dixon, 1981).

Este tipo de hongo produce una de las enfermedades más comunes presentes en el suelo y que afectan con importantes pérdidas en la siembra es el complejo de hongos del suelo *Fusarium* spp , el cual se inicia con manchas

oscuras pequeñas , rodeadas de anillos concéntricos ; cuando la enfermedad avanza , se produce una pudrición seca, la cáscara se arruga y se hunde, adquiriendo un color que varía del marrón al negro , a veces aparece un moho blanco algodonosos sobre las partes afectadas . cuando se usan tubérculos de papa semilla cortados , la fusariosis y otros hongos son más peligrosos, debido precisamente a los cortes , por el mal manejo y tratamiento de la semilla con un buen fungicida son factores decisivos para el éxito del cultivo (Smith *et al.*, 1988).

#### **Hospederos**

Fusarium oxysporum es un hongo saprofito abundante en los suelos, hoy en día se han identificado unas 80 formas especiales y varias de estas se subdividen en razas, causan pérdidas en plantas pertenecientes a todas las familias importantes de angiospermas (Armstrong y Armstrong, 1981). Este hongo produce pérdidas considerables en la mayoría de flores y hortalizas, plantas de campo: algodón, tabaco, plátano, café, caña y árboles de sombra (Bauer, 1984).

#### Importancia Clínica

Los alimentos de consumo animal y humano (trigo, huevo, maíz, papa, aguacate, carne, etc.) son atacados por los hongos *Fusarium* spp y *Aspergilus* spp. quienes lo contaminan de sus toxinas, las cuales tiene efectos dañinos que

van desde diarreas, hemorragias hasta el cáncer y la muerte (Carvajal *et al.,* 1988).

#### COLLETOTRICHUM COCCODES, (Wallr.) Hunghes.

#### (Antracnosis en plantas de cultivo).

#### Etiología

Las colonias son usualmente pigmentadas oscuras con un micelio aéreo blanco, el sclerocio es negro, numeroso, generalmente abundante , septado , esférico y a menudo confluente. Los conidios son rectos, fusiformes, atenuados en los extremos , 16-22 por 3-4  $\mu$ m. El apresorio es comúnmente marrón de 11-16.5 por 6-9.5  $\mu$ m, (Prusky *et al.*, 2000).

Colletotrichum coccodes difiere del tipo C. gloesporoides por sus conidias largas y rectas en acérvulos, con extremos atenuados, y por la formación frecuente de esclerocios que esta pueda tener (Smith et al., 1988).

Es una enfermedad poco conocida debido al parecido de los síntomas de la sarna plateada, esta enfermedad produce manchas grises sobre los tubérculos y un amarillamiento del follaje que acaba en una marchitez. Es considerado como un patógeno debilitante, (Chesters and Hornby, 1965).

Este patógeno se desarrolla en una gran variedad de medios de cultivo, desarrollando un micelio blanco superficial, luego las hifas se transforman en

esclerocios. Los conidióforos son subhialinos, miden de 10 a 30  $\mu$  de longitud, son cilíndricos y cónicos. Los conidios son unicelulares, hialinos, rectos o curvos, los esclerocios miden desde 100  $\mu$  hasta 0.5 mm de diámetro , están arreglados en círculos concéntricos y tienen acérvulos que producen varias esporas y setas (Hooker, 1990).

#### **Epifitiología**

Esta patología se puede apreciar mejor en suelos arenosos, con débil o excesivo contenido en nitrógeno, mal drenados y con elevadas temperaturas. Cuando los tubérculos infestados se plantan en suelo fumigado, puede haber una expresión más severa de la enfermedad (Chesters and Hornby, 1965).

#### Sintomatología

Calderóni, (1978) menciona que los síntomas más notorios aparecen en el tallo subterráneo, los tejidos externos se pudren y en ellos se observan varios puntos negros, estos síntomas se advierten así mismos, en las raíces y estolones. En los tubérculos se puede producir una depresión y oscurecimiento de la epidermis, levantando esta en los órganos atacados, con una coloración amatista ocre característico, sobre los tejidos muertos y/o desecados, aparece una gran cantidad de esclerocios negros. El hongo provoca al mismo tiempo un marchitamiento de tallos, las hojas se vuelven cloróticas y se enrollan, la planta muere prematuramente (Bovey, 1977).

#### **Hospederos**

La gama de huéspedes incluye a especies de 13 familias, principalmente Solanaceas, Curcubitaceas y Leguminosas. Colletotrichum coccodes es un patógeno relativamente poco especializado, aunque hay variación de morfología y agresividad entre aislados ; se le encuentra distribuido por todo el mundo (Chesters and Hornby, 1965). Las antracnosis producidas por este patógeno, son bastante comunes y destructoras, en numerosas plantas de cultivo y de ornato, y su distribución geográfica es bastante amplia, aún cuando sean muy severas en cualquier parte del mundo, es capaz de producir pérdidas más severas en los trópicos y subtrópicos (Prusky et al., 2000).

## Aspectos generales de componentes de actividad biológica natural de origen vegetal.

Uno de los más importantes sistemas de defensa de las plantas son las sustancias del grupo de las fitoalexinas (polifenoles y terpenoides); las cuales se sintetizan cuando las células vegetales se exponen a microorganismos (hongos y bacterias) u otros estímulos (Harbone, 1987, Darvill and Albersheim, 1984).

Los compuestos tipo terpenoides son sustancias contribuyentes a la actividad antimicrobiana de los llamados aceites esenciales, siguiendo en orden de actividad de dichos compuestos los primeros son los que contienen grupos

alcoholes, luego los que poseen aldehidos y por último los que contienen grupos cetónicos, (Panuwat, et al, 2003, Helander et al, 1998).

Las sustancias volátiles que confieren las plantas una gran parte de su fragancia son miembros de una tipo de compuestos llamados terpenos, nombre que deriva de los compuestos aislados de la trementina, estas sustancias se conocen desde la antigüedad y fueros y siguen empleándose como medicinas y fragancias. Estas sustancias son hidrocarburos insolubles en agua, denominados a menudo como aceites esenciales, y dependiendo de la cantidad de carbonos que los componen se clasifican en: mono, di, tri y terta – terpenos. Los terpenos pueden existir como estructuras de cadena abierta , cíclica o combinaciones de ambas (Pine, 1988).

Los taninos son compuestos polifenólicos (flavonoides), más o menos complejos de origen vegetal como metabolitos secundarios, de masa molecular elevada, de sabor astrigente, y que tienen la habilidad de formar complejos con proteinas, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas, con base a su origen químico y reactividad, los taninos se clasifican en dos grandes grupos, taninos condensados y los taninos hidrolizables, siendo el ácido gálico el fenol de este tipo el más importante el cual contiene en su estructura solamente un ácido carboxílico (Foo et al, 1982).

Otro tipo de elemento responsable de una actividad fungitóxica ante muchos organismos patógenos es la presencia elevada del elemento cobre en las plantas (Ortega, 1995).

ACTIVIAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE ROSA DE CASTILLA (Cowania plicata D. Don.) SOBRE Fusarium oxysporum Schlechtend. Fr. Y DE PISTACHO (Pistacia lentiscus L.) SOBRE Colletotrichum coccodes Wallr. Hunghes.

Contreras-Arredondo M. E., Hernández-Castillo F. D., Sánchez-Arizpe A., Gallegos-Morales G., Jasso de Rodríguez, D. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. de Parasitología, Apdo. postal 342, Buenavista, Saltillo, Coahuila, CP 25315 México. Correspondencia: fdanielhc@hotmail.com.

Resumen. Hoy en día existen abundantes restricciones para el uso de fungicidas sintéticos, debido a daños irremediables a la salud y al medio ambiente, volviéndolo tóxico para animales y plantas. Una posible alternativa, es la aplicación de agentes de rápida biodegradación como lo son los fungicidas provenientes de extractos vegetales. Debido a ello se propone evaluar extractos metanólicos de plantas leñosas de la región como: Rosa de Castilla y Pistacho, sobre dos especies de fitopatógenos de papa (Solanum tuberosum L.), in vitro como: Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes. Se reporta la concentración inhibitoria (CI) de los extractos metanólicos en placa de PDA, encontrando que la menor concentración (CI50) fue del extracto de hoja de Pistacho a 2,000ppm y la mayor (CI90) de 16,000ppm para Colletotrichum coccodes, mientras que con los extractos de flor de Rosa de castilla se obtuvo una (CI50) de 3,000 ppm y una (CI90) de 28,000ppm sobre Fusarium oxysporum. Las determinaciones químicas de dichos extractos, indican la presencia de varios compuestos de interés útiles no solo para enriquecer aún

más la basta quimiotaxonomía en plantas, sino también nuevos horizontes en investigaciones de principios activos con actividad plaguicida.

Palabras claves: Extractos vegetales, Actividad fungicida, Hongos fitopatógenos de papa.

Abstract. Today exist many restrictions to the use of sintetic fungicide, has been excessive and unfortunately very necessary the constant applications whit the objetive to produce much more amount to cause too health and ambiental injuries, to be transformed in a toxic too for animals and plants. So this job propose as possible alternative to apply chemical agents of substances of faster bio-degradation as such fungicides of vegetal extracts. The objectives of this research are to evaluate methanolic extracts of regional woody plans as such: Pistacho, and Rosa de Castilla; on two species of phytopatogen fungus of potato (Solanum tuberosum L.) and afterward to proceed to make several chemical analysis of soil and plant to the extract whith better fungicide capacity. In this research the reports are in per cent of inhibition of growing in each bioassay; the better successful extract was the extract of foliar Pistacho plant to a concentration of 4,000 ppm; this extract was evaluated chemically through several characterization assays indicate this the presence of several interesting compounds, to get rich a rought chem.-taxonomy in the great classification of plant collection world and open new horizons to others research in the search constants of active principles whit plaguicide activity.

**Key Words:** Vegetal extracts, Fungicide activity, Phytopathogenic fungus from potato.

#### INTRODUCCIÓN:

Al controlar plagas en el campo agrícola, los productores se han visto obligados a utilizar cada vez mayores cantidades de sustancias químicas; estos excesos provocan que los patógenos sufran de constantes mutaciones haciéndolos resistentes, requiriéndose dosis cada vez mayores para su control; aunado a lo anterior, ocasionan contaminación del ecosistema, además de provocar severas afecciones a la salud de las personas, animales y plantas (INIFAP, 2000, Montes y Martínez, 1992 y González, 1989). A pesar de los rápidos avances en las diversas áreas de la tecnología, América latina sigue comprometida con el reto de alimentar a su creciente población, en este concepto, la dependencia con el uso de plaguicidas y otros agroquímicos para el mantenimiento y desarrollo de los recursos agrícolas es incuestionables; sin embargo, existe considerable preocupación sobre los efectos negativos del uso de estos productos (Lagunes y Villanueva, 1994). En México están autorizados aproximadamente 150 ingredientes activos de plaguicidas los que se venden con más de 400 nombres comerciales (DGSV, 1982 y CICLOPAFEST, 1991). Actualmente existen muchas restricciones para el uso de fungicidas de tipo sintético, proponiéndose como una alternativa a los agentes químicos, la aplicación de productos de fácil biodegradación como son fungicidas derivados de extractos o polvos de origen vegetal. En este sentido, México es uno de los países con mayor diversidad vegetal en todo el mundo, estimándose

que posee entre 23,000 y 30,000 especies de plantas (Toledo, 1994) de las cuales se usan una mínima cantidad (Sarukham, 1995). La diversidad de compuestos con actividad fungicida es enorme y solo se conoce una pequeña parte de ellos, puesto que las plantas estudiadas representan un porcentaje sumamente bajo del total de especies en el planeta (Montes et al., 2000); Sin embargo algunos extractos vegetales pueden ser inhibidores para un cierta especie de hongo pero ser un estimulador del crecimiento para otros (Bravo et al, 1998). En otros casos, los compuestos fenólicos de los pigmentos tienen un efecto fungistático sobre dichos patógenos (Valadez et al., 1986). Las plantas durante su constante evolución han logrado desarrollar diversos mecanismos de defensa contra patógenos, uno de ellos es el desarrollo de metabolitos secundarios con posibilidades antimicrobianas; diversos autores han estudiado la aplicación de estos compuestos en forma de extractos acuosos o con diversos solventes para el control de organismos fitopatógenos (Montes y Domingo, 1990), como a continuación se citan algunos ejemplos: Guerrero et al., (2007), evaluaron con éxito el efecto de inhibición micelial de extractos de hojas frescas de Flourensia cernua sobre Alternaria alternata, Colletotrichum gloesporoides y Penicillium digitatum, empleando como solventes principales metanol y cloroformo en relación 1:1 a varias concentraciones; sin embargo no Lira todos los extractos antes mencionados afectaron la esporulación. Saldivar et al., (2006), evaluaron la actividad antifúngica in vitro de resina hidrosoluble de gobernadora (Larrea tridentata D.C. Coville L.) y soluciones de quitoscan (Ch), solos y combinados, sobre Botrytis cinerea, Colletotrichum

coccodes y Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, reportando que ambos productos manifestaron su efecto fungicida a 1,000 y 2,000 ppm; sin embargo al combinarlos mostraron una actividad fungicida sinérgica. Lira - Saldivar et al., (2002), evaluaron el efecto antifúngico de resina de Gobernadora (Larrea tridentata Sesse and Moc. Ex D.C.) colectadas de los desiertos Chihuahuense y Sonorense sobre Pythium sp. Pringsh, empleando como solventes metanol, etanol y cloroformo; las muestras colectadas en el desierto Chihuahuense mostraron 22.6% de inhibición, mientras las correspondientes a las un obtenidas en el desierto Sonorense obtubieron un 25.4% de inhibición. Gamboa et al., (2002), evaluaron extractos metanólicos de Hojasén (Flourensia cernua D.C.), Mejorana (*Origanum majorana L.*) y Trompetilla (*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.), sobre Phytophthora infestans Mont. (De Bary), reportando que el extracto con Mejorana presentó un efecto fungicida desde la dosis de 8,000 ppm; mientras que los extractos con F. cernua y B. Ternifolia, mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas. Jasso et al, (2004), evaluaron con éxito el efecto inhibidor del crecimiento micelial de la pulpa de Aloe vera sobre Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes.

En base a lo anterior, los objetivos de la presente investigación serán:

- Determinar las actividades biológicas "in vitro" de extractos metanólicos de Rosa de Castilla ( *Cowania plicata*) y Pistacho (*Pistacia lentisco*); sobre *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*, respectivamente.

-Determinar la parte vegetativa de la planta (hoja, raíz, flor, etc.) que contenga mayor bioactividad fungicida. Determinar la presencia de compuestos químicos de importancia en las partes vegetativas que muestren un mayor actividad fungicida.

# **MATERIAL Y MÉTODOS**

Aislamiento de los hongos fitopatógenos. Plantas de papa variedad Alpha con síntomas característicos de cada enfermedad, fueron colectadas en la región sureste de Coahuila y trasladadas al laboratorio de Fitopatología, donde bajo condiciones de asepsia se realizó los aislamientos en medio de cultivo papa-dextrosa agar (PDA); los hongos *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*, se purificaron por punta de hifa (Finch, 1982), y se identificaron a especies por caracteres morfológicos (Booth, 1997; Bailey y Jeger, 1992). Las cepas se conservaron en tubos de ensaye con PDA en refrigeración a 4 <sup>±</sup> 1°C. Para los bioensayos los hongos se inocularon en cajas Petri con PDA, colocándose un explante de micelio con medio de cultivo de <sup>±</sup>5 mm de diámetro al centro de cada caja Petri, se incubaron por cinco días a 22 <sup>±</sup> 2°C y oscuridad contínua.

Obtención del material vegetal La colecta de las plantas de Pistacho (*Pistacia lentiscus*), se realizó al sur de la ciudad de Saltillo, Coah. a una latitud norte de 25° 23′50″, 101° 00′ 37″ longitud oeste y a una altitud de 1750 msnm. La colecta de la planta Rosa de Castilla (*Cowania plicata*), se llevó a cabo en la sierra de Zapalinamé al sur de esta misma ciudad , localizado a 25° 22′35″ latitud norte, 100° 59′15″ longitud oeste a 1780 msnm. Las condiciones climáticas y el tipo de suelo de ambos sitios muestran ciertas variaciones, el promedio de precipitación anual es de 369 mm, coincidentes con los meses calientes anuales y con temporadas secas muy prolongadas INEGI, (2006). Plantas completas de estas especies fueron depositadas en bolsas de

plástico etiquetadas y colocadas en hieleras para su traslado . Posteriormente se fraccionaron sus partes vegetativas, se deshidrataron en secado artificial en incubadora a 35°C por tres días, y se molieron empleando un molino Thomas Wiley. Enseguida se envasaron en frascos de vidrio y se conservaron a no más de 45% de humedad relativa, a 22°C hasta su uso.

Obtención de los extractos. Para cada extracción se emplearon 300 gr de material vegetal previamente seco y triturado, este se depositó dentro de una funda de papel filtro marca Whatman, al cual se sometió a un proceso de extracción sucesiva por reflujo empleando equipos Soxhlet por un período de 24 h, a temperaturas de 45 a 50 ° C, empleando 700 ml de metanol como solvente, considerando que los extractos alcohólicos son útiles para conocer la presencia de principios activos importantes (Domínguez, 1973). Los extractos obtenidos se sometieron a evaporación por presión utilizando un rotavapor marca Buchi por 30 min., hasta obtener una pasta uniforme que luego se depositó en frascos de vidrio estéril etiquetados y cubiertos con papel aluminio conservándolos bajo refrigeración hasta su uso.

Actividad antifúngica de los extractos. Los bioensayos se efectuaron por el método de cultivo envenenado (Onkar y Sinclair, 1995) en cajas petri de 8 cm con la mezcla de PDA y el extracto. Las concentraciones a evaluar, variaron a de 0 a 55,000 ppm en extractos de Rosa Castilla (*C. plicata*) sobre *Fusarium oxysporum* y de 0 a 25,000 ppm en extractos de Pistacho (*P. lentisco*) sobre *Colletotrichum coccodes*, como pruebas preliminares; posteriormente se establecieron bioensayos con fracciones vegetales con la finalidad de

detectar la fracción vegetal más activa, empleando concentraciones de 2,000, 5,000 y 15,000 ppm para ambas. Los hongos se colocaron como explantes de 5mm tomados del margen de crecimiento vigoroso de una colonia de cinco días de edad al centro de cada caja petri. Las cajas se sellaron y se incubaron a 25 <sup>±</sup> 1°C por siete días. Las lecturas del crecimiento micelial se realizaron con un vernier y se transformaron a porcentaje de crecimiento con respecto a la media de crecimiento del testigo, se realizó un análisis Probit, para el cual se empleo el software PC-Log Probit (Camacho, 1991), empleándose tres repeticiones por tratamiento. Con este método se obtuvieron la dosis inhibitrix 50 y 90, la ecuación de predicción, las líneas de dosis respuesta, límites fiduciales, además de los valores de chi-cuadrada X² y el coeficiente de correlación r (Rodríguez, 1991 y Matsumara, 1976).

Análisis de suelo y planta. La determinacion en suelo: pH, porciento de nitrógeno y de materia orgánica (Dewis and Freitas, 1884, Black et al, 1965 y Jackson, 1976), y textura por el método del hidrómetro (Narro, 1994 y Grande, 1974), se realizaron en muestras extraídas a una profundidad aproximada de 60 cm (Homer and Parker, 2000), en la región donde se localizaron especies de Pistacho (*P. lentiscus*) y Rosa de castilla (*C. plicata*). Las pruebas realizadas a las fracciones foliares de la planta antes mencionada fueron: porciento de nitrógeno y de fósforo, (Sainz y Bornemiza, 1961, Homer and Parker, 2000, Bohz and Mellon, 1984), y análisis elemental mediante absorción atómica.

Determinaciones Fitoquímicas. La determinación de taninos totales (TT), se realizó de acuerdo a Folin-Cioecalteau (1927) y Singleton y Rossi (1965); los taninos hidrolizables (TH) por la técnica de Folin-Cioecalteau (1927) y Waterman y Mole (1987); los taninos condensados (TC) mediante los métodos de Price y Bulter (1978); los galotaninos por la técnica de Hagerman (1989); los elagiotaninos por el método de Wilson y Hagerman (1990); el contenido de ácido gálico por la técnica de Sharma *et al.*, (2000); HPLC, (Sade, 2000 y García, 2008); Especrtofotometría (Harris, 2006) y la determinación de compuestos terpénicos mediante cromatografía de gases (Varcárcel *et al.*, 1994).

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Efecto antifúngico de los extractos. La actividad inhibitoria del crecimiento micelial de los extractos de P. lentiscus sobre Colletotrichum coccodes y de C. plicata sobre Fusarium oxysporum alcanzó el 100% a 22,000 ppm y 55,000 (Tabla 1). Cabe señalar que las concentraciones ppm respectivamente anteriores se establecieron mediante pruebas preliminares, ya que no se encontraron reportes de otras investigaciones realizadas con este tipo de plantas, además de que es difícil establecer una metodología estándar para las pruebas de productos vegetales contra hongos ,en función a la diversidad de relaciones entre planta y patógeno (Pratley et a, 1999). Los resultados del análisis probit indican que la CI50 y la CI90 para Colletotrichum coccodes es de 3,003.58 ppm y 14,176.86 ppm, mientras que para Fusarium oxysporum es de 11,196.26 ppm y 33,615.48 ppm respectivamente (Tabla 2). Los análisis de correlación, muestran valores estimados de 0.860 para Colletotrichum coccodes y 0.842 para Fusarium oxysporum (Tabla 3). Estos datos sugieren que los resultados de los bioensayos presentaron buen ajuste y confiabilidad en los estudios realizados. Considerando que el estudio de las plantas con actividad biocida es complejo ya que dependiendo de la especie, pueden tener sus metabolitos secundarios de mayor potencial en hojas, tallos, raíces, flores o frutos (Domínguez, 1973), además que en varios estudios han concluido desde el punto de vista fitoquímico, las hojas v contienen alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos y que se les han comprobado su actividad antimicrobiana y antifúngica "in vitro" bajo condiciones

experimentales (Robineau, 1991, Dumbleton, 1990, Janssen et al, 1989 y Dixit y se procedió a realizar bioensayos con extractos de las Shukla, 1992), siguientes fracciones correspondientes a P. Lentiscus y C. plicata empleando metanol como solvente (Tabla 4 ). Los resultados del efecto inhibitorio de los extractos de diferentes partes vegetativas, muestran que el mejor resultado se logra con los extractos de hoja de P. Lentiscus sobre Colletotrichum coccodes con un 100% de inhibición a una concentración de 15,000 ppm y con los extractos de flor de C. plicata sobre Fusarium oxysporum alcanzando un 91.10% a la misma concentración (Tabla 4). Los análisis probit realizados para estas dos fracciones vegetales muestran que la CI50 y CI90 de P. lentiscus sobre Colletotrichum coccodes es de 2,135.30 y 16,016.69 ppm y para C. plicata sobre Fusarium oxysporum de 3,151.83 y 28,400.01 ppm (Tabla 5), mostrándose así que ambos extractos presentaron rangos de inhibición relativamente diferenciados, ya que el efecto de Cowania plicata sobre Fusarium en comparación con el mostrado con P. lentiscus sobre Colletotrichum resultó ser moderadamente más de tipo fungistático. Los análisis de correlación, muestran valores estimados de 0.950 para Colletotrichum coccodes y de 0.897 para Fusarium oxysporum (Tabla 6 ) , demostrando la compatibilidad de la determinación. En general los valores encontrados en los distintos análisis probits indicaron una buena disposición de los puntos obtenidos, que al graficarlos tendieron a una línea recta.

**Pruebas químicas**. Los grupos químicos que se encontraron en los análisis de extractos de hoja de *P.lentiscus* y en flor de *C. plicata*, fueron taninos del

tipo hidrolizables y condensados (Tabla 7), de los cuales han sido reportados como antagonistas fúngicos (Azaizeh et al, 1990), al igual que varios compuestos fenólicos, siendo estos según Waterman y Mole, (1994), el grupo de metabolitos secundarios más comúnmente estudiados, y de los cuales se sabe confieren cierta resistencia a las enfermedades con efectos fungistáticos (Tomas – Lorente et al, 1989), además, se encontraron elementos minerales de gran importancia como el nitrógeno, fósforo, potasio, fierro, magnesio y calcio que se sabe, ayudan a que la planta produzca compuestos que la hagan más resistente a los ataques a enfermedades causadas por hongos y bacterias (Hubert, 1980, Narro, 1995 y Bidwell, 1993), es importante mencionar que los extractos de P. lentiscus (hoja), fue la que presentó una mayor concentración de dichos grupos químicos en comparación a los extractos de C. plicata (flor); sin embargo los análisis de suelo muestran que existen ciertas diferencias significativas entre los dos tipos de suelo donde se colectaron ambas muestras vegetales (tabla 8), lo cual pudieran tener efecto en la biosíntesis de metabolitos secundarios en las plantas y su acción antagónica sobre microorganismos; su concentración pudiera verse influenciada por nutrientes del suelo y del clima presente en el lugar de recolección, (Norton, 1994); tal y como lo constataron los trabajos realizados por Lira – Saldivar et al, (2002), en los que demostraron que mismas especies de una misma planta (gobernadora, Larrea tridentata) colectadas en diferentes ecosistemas poseen distintas propiedades fungicidas; sin embargo la acción fungicida de los extractos metanólicos pudiese ser posiblemente también a la presencia de una gran cantidad de compuestos químicos (Tabla 7), ya que se conoce que ciertos compuestos del tipo fenólicos, taninos , cumarinas, flavonoides y terpenoides , tienen cierto efecto fungicida, nematicida, bactericida e insecticida ( Valadez *et al.*, 1986, Harborne, 1987, Meyer y Ferrigni, 1982 y Farmer and Ryan, 1990), por consiguiente los resultados obtenidos comprueban la fortaleza de la hipótesis del empleo de estos materiales para su uso con fines agrícolas y de clasificación quimiotaxonómica de especies de plantas del desierto con propiedades biocidas, tal y como lo proponen Waterman y Gray, (1987) y Forsyth, (1986).

## **CONCLUSIONES**

- 1.-Existe actividad fungicida de extractos metanólicos de Pistacho (*Pistacia lentiscus*) y Rosa de castilla (*Cowania plicata*), sobre *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* respectivamente.
- 2.-Los extractos metanólicos de hoja de Pistacho actúa a concentraciones más bajas con una Cl<sub>50</sub> y Cl<sub>90</sub> para *Colletotrichum coccodes* que los obtenidos por Rosa de Castilla sobre *Fusarium oxysporum*.
- 3.-La Cl<sub>50</sub> observada para el extracto de Pistacho sobre *Colletotrichum* coccodes resultó a 2,000 ppm.
- 4.-La Cl<sub>50</sub> observada para el extracto de Rosa de Castilla sobre *Fusarium* oxysporum resultó a 3,000 ppm.
- 5.-Las determinaciones químicas realizadas a extractos metanólicos de Pistacho, reportaron una gran cantidad de compuestos de interés como: cobre

a 18 ppm, compuestos fenólicos tales como: taninos condensados e hidrolizables, ácido gálico 93.20%, Galotaninos 82,50%, y compuestos terpénicos como el pineno, mirceno, limoneno, cariofileno y germanceno entre otros.

6.-Las determinaciones químicas realizadas a extractos metanólicos de Rosa de Castilla reportaron la presencia de algunas sustancias también encontradas en los extractos de Pistacho aún que en menores cantidades como: cobre a 13 ppm, compuestos fenólicos tales como: ácido gálico 0.51%, catequinas 0.96% y compuestos terpénicos como el ocimeno, furfuranos, hidroxinonas. Entre otros.

# LITERATURA CITADA

Azaizeh, H.A., Pettit, R.E., Scarr, B.A. and Phillips, T.D., 1990. Effect of peanut taninextract on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production, Mycopathologia. 110; 125-132.

Bailey, S.A. and Jeger, M.J. 1992. *Colletortichum* Biology, Pathology and control. C.A.B. International, Redwood Press Ltd, Molksham, U.K. 388 p.

Bidwell, R.G.S. 1993. Fisiología Vegetal, Primera Edición en Español, A.G.T. Editores, México D.F. 272-288 pp.

Black, C.A., D.D. Evans, J.L. White, L.E. Ensminger and Clark F.E., 1965. Methods of soil and chemical analysis, Agronomy G. Part II, Madison, American Soc. Of Agronomy. 1367 p.

Bohz, D.F. and Mellon, M.G. 1984. Spectrophotometric determination of Phosphorus as molibdenic acid. Anal-Chem. 20(1); 740.

Booth, C. 1971. the Genus of *Fusarium*. Commonwealth Micological Institute, Kew Surrey, England. 237 p.

Bravo L.L., Bermudez T.K. y Montes B.R. 1998. inhibición del crecimiento micelial, esporulación de *Fusarium moliliforme*. Sheld. Mediante aceites

esenciales vegetales y algunos componentes químicos. Revista Mexicana de Fitopatología. 16(1); 18-23.

Camacho, C.O., 1991. Programa PC-Probit ,versión 1.0, Centro de Estadística y Cálculo, Colegio de Postgraduados, Montecillos, Chapingo, México.

CICLOPAFEST 1991. Catálogo official de plaguicidas 1991, comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, SARH-SEDUE-SS-SECOFI. 469 pp.

Darvill, A.G. and Albersheim, P., 1984. Phytoalexins and their elicitors, a defense against microbial infection in plants. Annual Review of Plant Physiology, USA, 35(1):243-275.

Dewis, J. and Freitas, F. 1984. Métodos Físicos y Químicos de análisis de suelos y aguas . Boletín sobre suelos y aguas # 10 FAO Roma. 60 – 74 pp.

DGSV 1982. Manual de plaguicidas autorizados, SARH, Dirección general de sanidad vegetal P.F. 125 pp.

Dixit, V., Shukla, K., 1992. Evaluation of essential oil of Ocimun gratissimun against storage fungi. Indian perfumer, 36(4): 277-283.

Domínguez, X. A. 1973. Métodos de investigación Fitoquímica, Editorial Limusa S.A., Primera Edición, México 1 D.F. 40-68 pp.

Dumbleton, C. 1990. Medicinals plants in Vietnam. England: WHO, Institute of Medical materia, Hanoi, Vietnam. 263 p.

Farmer, E.E. and Ryan, C.A. 1990. Interplant communication airbone methyl jasmonate induces sisntesis of proteinase inhibitions in plant leaves, Academy of Sci., 87: 7713 – 7716.

Finch Eduardo. 1982 . Métodos de investigación fitopatológica . Ed. IICA , San José Costa Rica. 52 – 53 pp.

Folin C.Cioecalteau . 1927 . Tyrosine and Triptophan determination in proteins . Journal of Biochem. 73(1); 627 – 650.

Foo, L.Y., Jones, W.T., Porter, L.J. and Williams, K.M.,1982. Proanthocyanidin polymers of fodder legumes. Phytochemistry. 21:1:933-938.

Forsyth, A.A. 1986. Iniciación a la Toxicología vegetal, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1-230 pp.

Gamboa-Alvarado, R., Hernández –Castillo, F.D., Guerrero-Rodríguez, E., Sánchez-Arizpe, A. 2002. Inhibición del crecimiento micelial de Rhizoctonia solani Jun y Phytophthora infestans Mont. (De Bary) con extractos vegetales Metanólicos de Hojasén (Flourensia cernua D.C.), Mejorana (Origanum majorana L.) y Trompetilla (Bouvardia ternifolia (Ca.) Schletch.). Revista Mexicana de Fitopatología. 21(1):13-18

García de Marina Bayo, Adrián. 2008. HPLC Fundamental. Universidad Politécnica de Valencia, Primera Edición, Valencia, España. 378 pp.

Grande López Raúl.1974. Métodos para el análisis Físico-Químico de suelos agrícolas, Universidad Autónoma de S.L.P. Instit. De Investigación de zonas desérticas. S.L.P., S.L.P. México . 15 – 20 pp.

González S.F.A. 1989. Determinación de la persistencia de la actividad bactericida de la resina de larrea tridentata sobre pseudomonas solanacearum en vitro e invernadero, Tesis de Lic. UAAAN Buenavista, Saltillo, Coah. México. 68 p.

Guerrero- Rodríguez E., Solis-Gaona, S., Hernández Castillo, F.D., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V. Y Jasso- Cantú, D. 2007. ActividadBiológica in vitro de extractos de Flourensia cernua D.C. en patógenos de postcosecha: Alternaria alternata (Fr.:Fr.) Keissl., Colletotrichum gloesporoides (Penz.) Penz.

Y Sacc. Y Penicillium digitatum (Pers.:Fr.) Sacc. Revista mexicana de Fitopatología, volumen 25(1):48-53.

Hagerman A.E. 1989. Extraction of tannins from fresh and preserved leaves.

Journal of Chem.. Ecology 14(1); 453 – 462.

Harborne, J.B., 1987. Natural fungitoxins, Biologically active natural products. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe 27(1);195 – 211.

Harris, C. Daniel. 2006. Análisis Químico Cualitativo, Editorial Reverté. Tercera Edición. Barcelona ,España. 940 pp.

Helander, I., Alakomi, H., Lavta, K.K., Mattia, S.T., Pol, I. Smid, E., Gorris, L. and Wright, A.1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram – negative bacteria. Journal of Agricultural Food Chemistry. USA. 46:1:3590-3595.

Homer D. Chapman and Parker F. Pratt. 2000 – a. Métodos para el análisis de suelos plantas y aguas, editorial trillas, novena reimpresión. México, D.F. 45-46-102-114 pp.

Hubert, P.M. 1980. The role of mineral nutrition in defence. In "plant disease: An Advanced Treatise". G. Horsfall and E.B. Coulling Eds. Vol. 1(5);386-406.

Fuente INIFAP. Asociación Regional de Productores de papa, Saltillo, Coahuila, 22/Oct./2000.

Fuente INEGI – 2006, Oficinas en Saltillo, Coah. México.

Jackson., M.L. 1976, Análisis Químico se suelos, Tercera Edición, Omega Barcelona, España. 662 pp.

Janssen, A.N., Schaffer, J.J.C., Ntezurubanza, L., Svendsen, A.B. 1989. Antimicrobial activies of Same Ocimuns species grown in Ruanda, Ethnopharm. 26(1):57-93.

Jasso de Rodríguez, D. Hernández – Castillo, D., Rodríguez-García, R., Ángulo-Sánchez, J.L. 2005. Antifungal activity in vitro of aloe vera pulp and liquid fraction againts plant pathogenic fungi, Industrial Crops and Products 21(1);81-87.

Lagunes Tejeda Angel y Villanueva J.A. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Post-Graduados en Ciencias Agrícolas México, 1-2 p.

Lira-Saldivar, R,H; Gamboa-Alvarado, R.; Villareal-Cardenas, L.A.; López-Campos R.G.; Jiménez-Díaz, F. 2002. Hidrosoluble extracts of *Larrea tridentata* 

from two desertic zones in the north of México and their inhibitory effect on Fusarium oxysporum. PHYTON-International Journal of Experimental Botany . 167-172 p.

Lira-Saldivar R.H., Hernández-Suárez, M., Hernández-Castillo, F.D.,2006. Activity of *Larrea tridentata*, Coville L. Extracts and Chitosan Against Fungi that effect horticultural crops. Revista Chapingo Serie Horticultura 12(2):211-216.

Manzo-Sánchez, G., James-Kay, A., Ortíz-Vázquez, E. Y Simpson-Williamson, J.2007. Desarrollo de mapas genéticos y físicos de hongos fitopatógenos: Aplicaciones y perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología 25:54-65.

Matsumara F. 1976. Toxicology of insecticides, Second Edition. Plenum press. New York, USA. 503pp.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R.A. 1982. Converient general bioassay for active plants constituyents, Plant Med. 59(1):250-251.

Montes – Belmont Roberto, R., Cruz – Cruz, V., Martínez – Martínez, G. Sandoval – García, G., García – Licona, R., Zilch – Domínguez, S., Bravo – Luna, L.., Bermúdez – Torres, K., Flores – Moctezuma, H.E. y Carvajal – Moreno, M. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis

retrospectivo de investigaciones. Revista Mexicana de Fitopatología. 18(1):125 - 131.

Montes, B.R., Cruz, C.V. y Domingo, P.M. 1990. Control de la roya del frijol mediante extractos vegetales, bajo condiciones de campo en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, Culiacán, Sinaloa, México. 104 p.

Montes B.R. y Martínez M.G. 1992. Control de la cenicilla (Erysiphe cicho racearum) y del mildeu (*Pseudoperonospora cubensis*) de la calabacita mediante extractos vegetales en los valles altos de Oaxaca. Rev. Mex. De Fitopatol. 10(1): 186-191.

Narro Farías Eduardo., 1994. Física de suelos con enfoque agrícola, Primera Edición, Editorial Trillas S.A. de C.V. México D.F. 33-37 pp.

Narro, F.E. 1995. Nutrición y sustancias húmicas en el cultivo de papa, UAAAN, Memorias del Congreso Nacional de Productores de papa, IICA. 32-33 pp. Norton, B.W. 1994. The significance of tannins in tropical animal production, Scool of land and food, the University of Queensland, Brisbane Qld 4072, Australia, Abstract. 15 p.

Onkar D. Dhingra, James B. Sinclair. 1995. Basic plant pathology methods Second Edition. Lewis publishers. Boca raton, London, Tokyo. 272 p.

Ortega, D.A. 1995. Nutrición y Fitopatología, algunos aspectos de la nutrición mineral de las plantas, Placido Cuadros S.A. Granada, España. 53-71 pp.

Panuwat S., Joseph M., Kees S., Stephen W. 2003. Antimicrobial properties of Brasil and its possible application in food packaging. Journal of Food Chemistry. USA. 51:1:3197-3207.

Pain , S.H., Hendrickson, J.B., Cram, D.J. y Hammond, G.S. 1988. Química Orgánica, Cuarta Edición, McGraw Hill/Interamericana, México, D.F. 568 – 569 pp.

Pratley, J.E. An, M. and Haig, T. 1999. Following a especific protocol to establish allelopathy conclusively, an Australian case study. In: Macias, A.F., Galindo, C.G. Molinillo, M.G.J. and Cutler, H. (eds.)Recent Advances in Allelopathy. Vol. 1 a Science for the Future. International Society of Alelopathy. Universidad de Cádiz. 63-70 pp.

Price M.L. Van Scoyoc . S. and Butler L.G. 1978 . Acritical evaluation of the vainillin reaction as an assay for tannin in soghum grain . Journal of Agricultural and food chem. 26 (1); 1214 – 1218.

Robineau, L. 1991. Hacia una Farmacopea Caribeña, Santo Domingo, Rep. Dominicana; Enda Caribe. 475 p.

Rodríguez del Angel J.M. 1991. Métodos de investigación pecuaria. Primera Edición, Editorial Trillas. México D.F. 28-37 pp.

Sade K. Paul C. 2000. Trouble shooting HPLC Systems a Bench Manual, Primera Edición: John Wiley and Sons, New York, USA. 138 pp.

Sainz del Rio J.F. y E. Bornemiza S. 1961. Departamento de energía nuclear, Centro tropical de Investigación y Enseñanza, Instituto de Ciencias Agrícolas de la OEA, Turralba, Costa Rica. 5-94 pp.

Sarukham J. 1995. Diversidad Biológica, Universidad de México, 536(1):3 – 10.

Sharma S. S., Bhat, T.K., Dawra, R. 2000. A spectrophotometric meted for assay of tannins using rhodantina, Analytical Biochem. 279 (1):85 – 89.

Singleton, P. and J. Rossi. 1965. Determination of Tannins in wines J. Enilogy

and Viticulture . 6(3);114.

Toledo, V.M. 1994. La diversidad biológica de México, nuevos retos para la investigación en los noventas. Ciencias (UNAM) 34(1):43 – 59.

Tomas-Lorente, F., Iniesta-Sanmartín, E. Tomás-Borboran, F.A., Trowitzch-Kienast, W. And Wray, V. 1989. Antifungal phloroglucinal derivatives and lipophilic flavonoids from helichrysum decumbens. Phytochem. 28(1):1613 – 1616.

.Valadez, M.E., Ortega, D.M.L. y Fuciovsky, Z.L. y Caballo, C.A.1986. Centro de genética, Colegio de post-graduados, Chapingo, México, pigmentos del frijol con acción bactericida sobre Pseudomonas syringae y Xanthomonas campestris. XIII Congreso Nacional, VI Reunión anual, Museo regional de Tuxtla Gtz. Chiapas. 55 p.

Valcárcel Cases Miguel, Gómez Valcárcel M., Gómez Henz A. 1994. Técnicas analíticas de separación, Editorial Reverté S.A., Primera Edición. 778 pp.

Waterman, P.G. and Gray, A.I. 1987. Chemical Systematics. Natural Products Reports, 4(1); 175-203.

Waterman Peter G. y Simon Mole, 1987. Critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. Techniques of chemically defining tannins. Oecología 72 (1):137 – 147.

Waterman Peter G. y Simon Mole . 1994 . Methods in Ecology – Análisis of plant phenolic , plant metabolites . 1-74 pp.

Wilson T.C. and Hagerman A.E. 1990 . Quantitative determination of ellogic acid journal of Agriculture and Food Chemistry , 38 (1):1678 – 1683.

Tabla 1. Porciento de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* a diferentes concentraciones en extractos de *P. Lentiscus* y *C. plicata* en placas con PDA.

Tratamientos en ppm	C. plicata Fusarium oxysporum	tratamientos en ppm	P. lentiscus Colletotrichum coccodes
5,000	11.66%	1,000	18.73%
10,000	44.55%	2,000	35.50%
15,000	77.27%	4,000	57.24%
20,000	79.39%	6,000	66.39%
25,000	79.85%	8,000	87.24%
30,000	81.82%	10,000	87.88%
35,000	87.88%	13,000	88.30%
40,000	90.90%	16,000	90.00%
45,000	94.70%	19,000	92.45%
50,000	97.58%	22,000	100%
55,000	100%	25,000	100%

Tabla 2. Concentraciones (CI50 y CI90) de extractos de *P. lentiscus* sobre *Colletotrichum coccodes* y de *C. plicata* sobre *Fusarium oxysporum*.

Extracto	Lír Cl50	nites Fiducia Inferior	ales (ppm) Superior	C190	
Cowania plicata	11,196.26	9,990.92	12,347.22	33,615.48	
Pistacia lentisco	3,003.58	2,585.99	3,420.33	14,176.86	

Tabla 3. Coeficiente de correlación (r) y chi-cuadrada (X²) de las líneas de regresión dosis – inhibición de diferentes concentraciones de extractos de *P. Lentiscus* y *C. plicata* sobre *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum*.

Extracto	Hongo	r	X <sup>2</sup>	G.L.	Probabilidad
Cowania plicata Pistacia lentiscus	Fusarium oxysporum Colletotrichum coccodes	0.842 0.860	0.1798 0.0746	2 2	0.95 0.95

Tabla 4. Porcientos de Inhibición de crecimiento micelial con extractos de diferentes partes vegetales de Cowania plicata (CP) y Pistacia lentiscus (PL) sobre Fusaium oxysporum y Colletotrichum coccodes, respectivamente.

Concentració	ón			Extractos	de:			
ppm	hoja	/ hoja	raíz /	raíz	flor /	drupa	tallo /	tallo
	CP	PL	CP	PL	CP	PL	CP	PL
2,000	37.04%	51.79%	23.44%	09.10%	41.57%	01.80%	15.63%	06.37%
5,000	57.50%	85.45%	30.47%	15.82%	72.97%	10.37%	23.44%	10.00%
15,000	88.13%	100%	41.25%	44.37%	91.10%	19.64%	40.94%	50.91%

Tabla 5. Concentraciones inhibitorias (CI50 y CI90) y límites fiduciales al 95% de C. plicata y P. Lentiscus sobre Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes.

Extracto	L CI50	ímites Fudu Inferior	ciales (ppm) Superior	CI90	
C. plicata	3,151.83	2,569.46	3,733.02	28,400.01	
P. lentiscus	2,072.55	1,622.02	2,510.14	16,373.91	

Tabla 6. Coeficiente de correlación (r) y chi-cuadrada (X²) de las líneas de regresión dosis – inhibición de diferentes concentraciones de extractos de *P. Lentiscus* y *C. plicata* sobre Colletotrichum coccodes y Fusarium oxysporum.

Exracto	Hongo	r	$\chi^2$	G.L.	Probabilidad
C. plicata	Fusarium oxysporum	0.950	0.021672	2	0.95
P. lentiscus	Colletotrichum coccodes	0.897	0.034032	2	0.95

Tabla 7. Análisis fitoquímicos de muestras secas de P. Lentiscus y C. plicata.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS EN	RESULTADOS EN
	hoja seca de P. lentiscus	flor seca de C. plicata
% de Nitrógeno	2.300	1.800
% de Fósforo	0.015	0.0076
Elementos minerales		
K	2.639%	1.560%
Mg	0.770%	0.455%
Ca	0.423%	0.078%
Na	0.439%	0.114%
Fe	360 ppm	180 ppm
Cu	18 ppm	13 ppm
Zn	65 ppm	77 ppm
Mn	14 ppm	1 ppm
Análisis de polifenoles		
	Taninos totales 39.01%	02.60%
	Taninos hidrolizables 35.10%	01.00%
	Taninos condensados 22.56%	01.44%
	Galotaninos 82.50%	galoil-glucósido 0.815%
	Elagiotaninos 17.50%	catequina 0.96%
	Contenido de ácido gálico 93.20%.	0.51%
	Glucósidos totales 6.8%	0.32%
Por cromatografía de gases, HPLC	y Fotometría	
	14.041% de alfa- pineno	5.94% de trans-beta-ocimeno
	8.353% de beta- pineno	6.87% de 5-Hidroximetil-Furfura
	5.013% de mirceno	11.81% de 3,5-Dihidroxi-2-metil
	43.123 % de limoneno	- 5,6-dihidroxi-4-ona
	5.974% de trans- beta- ocimeno	
	11.989% de beta - cariofileno	
	11.505% de germanceno	

Tabla 8. Análisis en suelo de muestras secas de P. Lentiscus y C. plicata.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS EN hoja seca de <i>P. lentiscus</i>	RESULTADOS EN flor seca de <i>C. plicata</i>
% de nitrogeno	0.18	0.40
Ph	7.40	7.90
Materia orgánica	0.91%	4.40%
Textura	%limo+%arcilla total- 56.48%	%limo+%arcilla total - 72.48%
	% arena - 43.52	% arena - 27.52%
	% arcilla total - 3.24	% arcilla total – 17.24%
	% limo - 53.24	migajón limosos
	franco – limoso	

## **CONCLUSIONES GENERALES**

Acorde a los objetivos planteados y resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se llegó a las siguientes conclusiones:

Los extractos obtenidos a partir de hoja de Pistacho demostraron tener un efecto de inhibición superior sobre *Colletotrichum coccodes* que a los observados con extractos de flor de Rosa de castilla sobre *Fusarium oxysporum*.

Los grupos químicos que se encontraron por cromatografía, fueron aceites esenciales de tipo aromático, taninos, flavonas y demás elementos minerales.

Las pruebas de análisis de suelo y planta demuestran la gran adaptabilidad de Pistacho y Rosa de castilla a condiciones semiáridas de esta región.

#### RESUMEN

La presente investigación surge de la necesidad actual de buscar otras opciones para el uso de fungicidas sintéticos, debido a daños irremediables a la salud y al medio ambiente, volviéndolo tóxico para animales y plantas . Una posible alternativa, es la aplicación de agentes de rápida biodegradación como lo son los fungicidas provenientes de extractos vegetales. Debido a ello se propone evaluar extractos metanólicos de plantas leñosas de la región como: Rosa de Castilla y Pistacho, sobre dos especies de fitopatógenos de papa (Solanum tuberosum L.), in vitro como: Fusarium oxysporum y Colletotrichum coccodes. Se reporta la concentración inhibitoria (CI) de los extractos metanólicos en placa de PDA, encontrando que la menor concentración (CI50) fue del extracto de hoja de Pistacho a 2,000ppm y la mayor (CI90) de 16,000ppm para Colletotrichum coccodes, mientras que con los extractos de flor de Rosa de castilla se obtuvo una (CI50) de 3,000 ppm y una (CI90) de 28,000ppm sobre Fusarium oxysporum. Las determinaciones químicas de dichos extractos, indican la presencia de varios compuestos de interés útiles no solo para enriquecer aún más la basta quimiotaxonomía en plantas, sino también nuevos horizontes en investigaciones de principios activos con actividad plaguicida.

### LITERATURA CITADA

Apodaca S.M.A. y Gerardo A.M. 1993. Extracto de semilla de toronja (*Citrus paradisi* macf.) para el control de enfermedades de frutos en post – cosecha. Memorias del XX Congreso Nacional de Fitopatología, Zacatecas Zac. México. 67 p.

Armstrong, G.M. and Armstrong, J.K. 1981. Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases. In Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy (Eds. P.R. Nelson, T.A. Tousson and R.J. Cook), Pennsylvania, State, Univ. Press. USA. 391-399 pp.

Bailey, S.A. and Jeger, M.J. 1992. Colletotrichum Biology, Pathology and Control. C.A.B. International, Redwood, press. Ltd. Molksham, UK. 388p.

Barnett, L.H. and Hunter, B.B. 1987. Ilustrated genera of imperfect fungi. Four Edition. Burges Publishing CO. Minn. USA. 218 p.

Baker, P. Benbrook, C.M., Goth III, E. and Lutz, Benbrook, K. 2002. Pesticide residues in conventional IPM - grown and organic foods: insights from three U.S data sets. Food additives and contaminants, 19(5): 427 – 446.

Bauer de la I. María de Lourdes. 1984. Fitopatología. Ed. Limusa, México, Pag. 50.

Booth, C. 1971. The Genus of Fusarium. Commonwealth Micological Institute, Kew, Surrey. England .UK. 237 pp.

Bouhot, D.1981. Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales in Fusarium Diseases, Biology and taxonomy (Eds. P.E. Nelson, T.A. Tousson and R.J. Cook) Pennsylvania State University Press. USA.

Bovey, R. 1977. La defensa de las plantas cultivadas. Primera Edición. Editorial Omega. España. 883 p.

Calderoni, V.A. 1978. Enfermedades de la papa y su control. Primeta Edición, editorial, Hemisferio Sur. Argentina. 143 p.

Carvajal, M., Solis, R., Romero, Y. Y Aguilar, A. 1988. Departamento de botánica, instituto de Biología, UNAM. Efecto de las micotoxinas de Fusarium y Aspergillus en maíz y trigo, sobre células animales y humanas. XV Congreso Nacional de Fitopatología, Xalapa, Ver. México. 7 p.

Chesters, C.G.C. and Hornby, D. 1965. Studies on Colletotrichum coccodes. Transaction of the British Micological Society. 48(1):573 – 581. Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. 2000. "Natural products (secondary metabolites)". Buchanan, Gruissem, Jones (Ed.). Biochemistry and molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists, Chapter 24. Rockville, Maryland, USA. 1250 – 1318 p.

Cruz de Matos, S. 2000. Uso de sustacias naturales de origen vegetal con actividad biológica en la protección de cultivos agrícolas, departamento de fisiología vegetal, Estación Agronómica Nacional, 2784 – 505, Oeiras Portugal, Agronomía Lusitana 48 suplemento #2:1-44.

Curtis – Mendoza, Iveli, La Botánica en el hogar, Formulario de las plantas medicinales, Guadalajara, Jal. México, 1974, SEP. 29-30 pp.

Dixon, G.R. 1981. Vegetable crop diseases AVI. Publishing. CO. Conn. USA 404 p.

Domínguez, A. Xorge. 1973 Métodos de Investigación Fitoquímica, Centro de Investigación regional de ayuda Técnica (AID), México/Buenos Aires. Ed. Limusa, 40 p.

Duke, S.O. 1990. Natural pesticides from plants. In advances in New Crops. Janick, J., Simon, J.E. (Editors). Timber Press. Portland, Oregon, U.S.A. 511 – 517 p.

Lara, O.F. y Alonso, C.M.,. 1996. Plantas medicinales de México, composición, usos y actividad biológica, Edición Universitaria, UNAM México. D.F., México. prólogo.

Fuente INIFAP, Asociación regional de productores de papa, Saltillo, Coah. 22/oct/2000.

García, L.R y Montes, B.R. 1992. Efecto de extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en jitomate. Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología, Buenavista, Saltillo, Coah. México, 159. p

Graine M. and Ahmed S. 1988. Handbook of plants whit pest control properties John Wiley and Sons Ed. 470 p.

Guigon, L.C. 1994. Epidemiología de las enfermedades de la papa causadas por hongos fitopatógenos del suelo en el sur de Coahuila y Nuevo León, Tesis de Maestría, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah., México. 74 p.

Harbone, J.B. 1987. Natural fungitoxins biologically active natural products – proceedings of phytochem. Society of Europe 27(1):195-211.

Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. Drugs Discovery Today. 5(7): 294 – 300.

Hernández, M.E., Mendoza, Z.C. y Ponce, G.F. 1997. Control químico (Warllr) Legart en papa. XXIV Congreso Nacional de Fitopatología, Cd. Obregón Sonora 23 (1):118 – 120.

Hernández, H.H. 2000. Asociación de los hongos *Fusarium oxysporum* Sch. Y *Verticillium dahliae* en los síntomas de la punta morada en papa del sur de Coah. Y N.L. Tesis de Maestría. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah. México, 74 p.

Hernández, H.L.U., Granados, A.N., 1992. Actividad de leguminosas sobre hongos causantes de enfermedades en frutos de post-cosecha en condiciones de laboratorio. XIX Congreso Nacional de Fitopatología, Buenavista Saltillo, Coah. México. 162 p.

Hooker, W.J. 1990. Compendium of potato diseases Tercera Edición, The Américan Phytopathological Society. USA. 125 p.

Martínez, Maximino. 1996. Las plantas medicinales de México, Sexta edición, Ediciones Botas, México, D.F. 282 p.

Melhus, E.I. and Kent, G.C. 1939. Elements of plant pathology, Mcmillian CO. New York, USA. 439 p.

Mendelsohn, R., Balick, M.J. 1995. The value of undiscovered pharmaceuticals in tropical forests. Economic Botany . 49(2): 223 – 228.

Meza N. 1963. Insectos, El libro del año sobre agricultura, sistemas para combatir las plagas, Ed. Herrero, México. 235 p.

Moctezuma, G.R 2005. Hongos del suelo y su asociación con el síndrome de la punta morada en papa en Coahuila y Nuevo León, Tesis de Maestría, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah., México. 3 p.

Montes – Belmont, R. Cruz – Cruz, V. Martínez – Martínez, G. Sandoval – García, R. García – Licana, S. Zilch – Domínguez, Bravo – Luna, L. Bermúdez – Torres, K. Flores – Moctezuma, H.E. y Carvajal – Moreno, M. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores, análisis retrospectivo de investigaciones, Revista Mexicana de Fitopatología, 18(1):125 – 131.

Montes, B.R. y Flores, M.H.E. 2000. Tratamiento de semillas de sorgo con aceites esenciales para el combate de Fusarium moniliforme, Resúmenes XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, Pto. Vallarta, Jal. 6p.

Montes R., Sandoval G. Y Orozco C. 1990. Extractos vegetales inhibidores de la germinación de urediosporas de *Uromyces phaseoli* var. Typica arth y su espectro de acción antiespurulante, Revista Mexicana de Fitopatología. 8(1): 64 – 67.

Mottet, S. 1970. Arboles y arbustos ornamentales, Editorial Mundi –prensa, Madrid, España. 166 p.

Nelson, P.E., Tousson, T.A., and Marasas, W.F.O. 1983. Fusarium Species: An illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA. USA.

Niño, O.J.M., O. Mosquera, N.Y., Correa y C.P. Victoria. 2001. Selección de 50 plantas del parque regional natural Ucumari, con el propósito de realizar estudios de actividad biológica y tamizados fitoquímicos, Universidad Tecnológica de Pereira, Boletín técnico. 097.78 p.

Pistacia lentiscus – INFOJARDÍN, 14/11/07.

www.fichasinfojardin.com/arbustos/pistacia-lentiscus.htm

Pitman, N., Jorgensen, P. 2002. Estimating the size of the worlds threated flora. Science 298(5595):989.

Prusky, D., Stanley, Freeman, Martin, B. Dickman. 2000. Colletotrichum, host specificity, Pathology and host pathogen interaction, ASP Press, The American Phytopathological Society, St. Paul Minn. USA. 362 - 363 pp.

Quintero, S.R.F., Gioanetto, L.E., Chavez y O.D., Bárcenas (editores) 2002. Curso Taller de Agricultura Orgánica Universidad Autónoma de Chih., Universidad Michoacana de San Nicolás de Hgo. CIDACOM, Chih. Chih. 227 p.

Rausher, M. 2001. Co-evolution and plant resistanse to natural enemies. Nature 411(1): 857 – 864.

Rodríguez, C. E. 2000. Propiedades plaguicidas de Epazote, *Teloxys ambrosioides* (*Chenopodiaceae*). Memorias del VI Simposio Nacional sobre vegetales y minerales en el combate de plagas. Sociedad Mexicana de Entomología. Acapulco, Gro. México. 145 – 149 pp.

Romero Cova, Sebastián. 1988. Hongos fitopatógenos, Universidad Autónoma de Chapingo, primera edición, México. 315 p.

Rosa de Castilla – INFOJARDIN. <u>www.rosarosam.com</u>, 14/11/07

Rosado, A. 2005. Nematodos fitoparásitos en calabaza (Curcubita moscata Butch). Tesis de Maestría en Ciencias, Universidad de Puerto Rico. 36 p.

Sarukham, J. 1995. Diversidad Biológica, Universidad de México, 536(3)-10.

Smith, I.M., Dunez, J., Lelliot, R.A., Phillips, D.H. y Archer, S.A. 1988. Manual de enfermedades de las plantas, Ediciones Multi – prensa, Madrid, España.

379 - 419 pp.

Standley, Paul C. 1923. Trees and shrubs of Mexico, US-National herbarium, vol 23, part – 3, Washington, Government priting office. 326 - 661 pp.

Streets, B.R. 1968. The diagnosis of plant diseases. Univ. Arizona Press USA.

Theis, N. and Lerdau, M. 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites International Journal of Plant Sciences 164(3):S93 – S102.

Thomas, H.K., and Pebles, R.H.1951. Arizona flora, University of California press, Berkeley, Los Angeles, USA. 522 p.

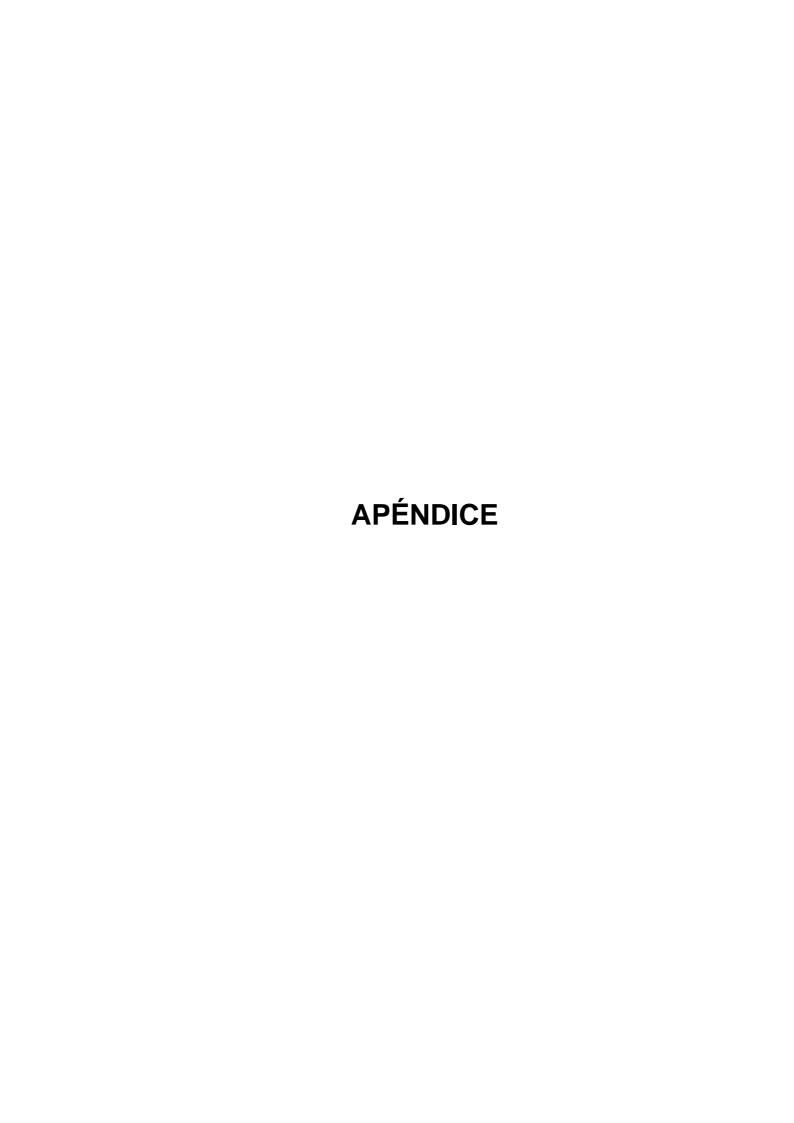
Toledo, V.M. 1994. La diversidad biológica de México, nuevos retos para la investigación en los noventas, Ciencias UNAM, 34:43 – 59.

Tun J. Navarrete J.A. Quiroz J. Y Soria M. 1997. Forma y dosis de Cempazúchil , aplicado a suelo como nematicida en pepino (cucumis sativus L.) Memorias del XXIV Congreso Nacional de Fitopatología. Cd Obregón Son México, Resumen. 84 p.

Wedge, D. Curry, K.J., Abril, M., Smith, B. y Delucca, A. 2003. CCAY-1 A potential natural fungicide for control of small fruit for control of small fruit disease, Abstracts of the Pan – American Plant Disease, Conference South Padre Island TX. 261 – 263 pp.

Zavaleta M.E. 1987. Modificadores orgánicos en el manejo de enfermedades radicales Rev Mexicana de Fitopatología 5(2): 159-168.

Zavaleta, M.E. 1994. Control Biológico de Fitopatógenos con orígenes en el suelo y perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología. 17(1): 101 – 104.



## ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

CUADRO:	Pág.
CUADRO 1. Porcentajes de crecimiento e inhibición micelial de	
Fusarium oxysporum a diferentes concentraciones en extracto	
de Rosa de Castilla (C. plicata) en placas con PDA.	
Ensayos preliminares	- 72
CUADRO 2. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de Colletotrichum coccodes a diferentes concentraciones en extractos de Rosa de Castilla (C. plicata) en placas con PDA.	
Ensayos preliminares	- 72
CUADRO 3. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de Colletotrichum coccodes a diferentes concentraciones en extractos de Pistacho ( <i>P. Lentiscus</i> ) en placas con PDA .  Ensayos preliminares	- 73
CUADRO 4. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de Fusarium	
oxysporum a diferentes concentraciones en extractos de Pistacho	
(P.lentiscus) en placas con PDA.	
Ensayos preliminares	73
CUADRO 5. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial <i>de Fusarium oxysporum</i> con extracto de Rosa de castilla (C. plicata) a diferentes concentraciones.	<b>.</b> 74

CUADRO 6. Porcentaje de crecimiento e inhibición de Colletotrichum	
coccodes Con extracto de Pistacho (P. lentiscus) a diferentes	
concentraciones	74
CUADRO 7. Porcentaje de crecimiento e inhibición de Fusarium	
oxysporum con extractos de diferentes partes vegetales de Rosa de	
Castilla (C. plicata)	75
CUADRO 8. Porcentaje de crecimiento e inhibición de Colletotrichum	
Coccodes con extractos de diferentes partes vegetales de Pistacho	
(P. lentiscus).	76
CUADRO 9. Porcentaje de crecimiento e inhibición de Colletotrichum	
coccodes con extracto de hoja de Pistacho (P. lentiscus)	77
CUADRO 10. Porcentaje de crecimiento e inhibición de Fusarium	
oxysporum con extracto de flor de Rosa de castilla (C. plicata)	77

## ÍNDICE DE FIGURAS DEL APÉNDICE

FIGURAS:	
FIGURA 1. Líneas de respuesta dosis - % inhibición, para los extractos de	
Pistacho (A) y Rosa de Castilla (B) sobre Colletotrichum coccodes y	
Fusarium oxysporum respectivamente	78
FIGURA 2. Líneas de respuesta dosis - % inhibición para los extractos de	
Hoja de Pistacho (A) y flor de Rosa de Castilla (B) sobre Colletotrichum	
coccodes y Fusarium oxysporum respectivamente	79

CUADRO 1. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de *Fusarium oxysporum*. A diferentes concentraciones en extracto de Rosa de Castilla (*C. plicata*) en placas con PDA. Ensayos preliminares.

Tratamie	ntos					
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
500	6.2/6.2	5.8/6.0	6.0/6.1	6.05	94.53	5.47
1,000	5.0/5.8	5.1/5.5	5.3/5.4	5.35	83.60	16.40
10,000	3.5/3.0	1.8/2.9	2.6/3.0	2.80	43.75	56.25
15,000	1.8/2.0	2.1/2.3	2.1/2.0	2.05	32.03	67.97
30,000	0.4/0.4	0.4/0.4	0.5/0.3	0.40	6.25	93.75
50,000	0	0	0	0	0	100
100,000	0	0	0	0	0	100
testigo	6.3/6.9	6.8/6.2	6.0/6.2	6.40		

CUADRO 2. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de *Colletotrichum coccodes* a diferentes concentraciones en extractos de Rosa de Castilla (*C. plicata*) en placas de PDA. Ensayos preliminares

en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
500	5.4/5.3	5.2/5.3	5.4/5.2	5.3	98.15	1.85
1,000	5.0/5.2	4.8/5.0	5.0/5.0	5.0	92.60	7.40
10,000	4.6/5.3	3.6/4.5	3.8/5.2	4.50	83.34	16.66
15,000	4.1/4.5	4.0/3.6	4.1/4.0	4.05	75.00	25.00
30,000	3.3/3.2	3.1/3.2	3.2/3.2	3.20	59.26	40.74
50,000	1.5/1.4	1.5/1.6	1.4/1.6	1.50	27.78	72.22
100,000	0	0	0	0	0	100
testigo	5.8/5.1	5.0/5.5	5.4/5.6	5.40		

CUADRO 3. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de *Colletotrichum coccodes* a diferentes concentraciones en extractos de Pistacho (*P. Lentiscus*) en placas de PDA . Ensayos preliminares.

Tratamie	ntos					
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
500	4.2/4.4	54.2/4.3	4.2/4.5	4.30	91.48	8.52
1,000	4.0/3.9	4.0/3.7	3.8/4.0	3.90	82.97	17.03
10,000	1.1/1.0	1.2/1.4	1.0/0.9	1.10	23.40	76.60
15,000	0.6/0.5	0.6/0.5	0.9/0.7	0.63	13.40	86.60
30,000	0	0	0	0	0	100
50,000	0	0	0	0	0	100
100,000	0	0	0	0	0	100
testigo	5.0/4.8	4.0/4.5	5.0/ 5.0	4.70		

CUADRO 4. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial de *Fusarium oxysporum* a diferentes concentraciones en extractos de Pistacho (*P.lentiscus*) en placas con PDA . Ensayos preliminares.

Tratamient	os					
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
500	5.2/5.5	5.1/5.2	5.0/5.3	5.21	94.72	5.28
1,000	4.6/4.3	4.6/5.1	4.5/4.5	4.60	83.63	16.37
10,000	3.7/3.7	3.5/3.5	4.3/3.8	3.75	68.18	31.82
15,000	2.8/3.6	3.0/2.7	2.6/3.1	2.96	53.81	46.19
30,000	0.9/1.3	1.0/1.6	1.5/1.4	1.28	23.27	76.73
50,000	0.7/0.6	0.6/0.9	0.5/0.6	0.65	11.81	88.19
100,000	0	0	0	0	0	100
testigo	5.0/4.8	4.0/4.5	5.0/ 5.0	4.70		

CUADRO 5. Porcentaje de crecimiento e inhibición micelial *de Fusarium oxysporum* con extracto de Rosa de castilla (*C. plicata*) a diferentes concentraciones.

Tratamien	tos					
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
5,000	5.876.0	5.5/5.7	6.0/6.0	5.83	88.34	11.66
10,000	4.0/3.8	3.3/3.5	3.8/3.6	3.66	55.45	44.55
15,000	1.5/1.5	1.4/1.5	1.6/1.5	1.50	22.73	77.27
20,000	1.5/1.3	1.3/1.3	1.4/1.4	1.36	20.61	79.39
25,000	1.2/1.3	1.4/1.5	1.3/1.3	1.33	20.15	79.85
30,000	1.0/1.3	1.5/1.3	1.0/1.1	1.20	18.18	81.82
35,000	0.9/1.0	0.5/0.6	1.0/0.8	0.80	12.12	87.88
40,000	0.5/0.6	0.6/0.7	0.6/0.6	0.60	9.10	90.90
45,000	0.4/0.4	0.4/0.3	0.3/0.3	0.35	5.30	94.70
50,000	0.2/0.1	0.1/0.2	0.2/0.2	0.16	2.42	97.58
55,000	0	0	0	0	0	100
testigo	7.0/6.6	6.6/6.3	6.6/6.5	6.60		

CUADRO 6. Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Colletotrichum coccodes* con extracto de Pistacho (*P. lentiscus*) a diferentes concentraciones.

Tratamient	os					
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	%Crecimiento	%Inhibición
ppm	cms	cms	cms			
1,000	4.0/3.8	3.8/3.8	4.0/3.5	3.82	81.27	18.73
•					-	
2,000	3.0/3.2	3.1/3.0	3.1/3.0	3.30	64.50	35.50
4,000	2.0/1.8	2.1/2.1	2.0/2.1	2.01	42.76	57.24
6,000	1.571.7	1.5/1.6	1.6/1.6	1.58	33.61	66.39
8,000	0.5/0.6	0.7/0.5	0.6/0.7	0.60	12.76	87.24
10,000	0.6/0.5	0.670.6	0.5/0.6	0.57	12.12	87.88
13,000	0.6/0.7	0.5/0.6	0.5/0.4	0.55	11.70	88.30
16,000	0.5/0.4	0.670.4	0.4/0.5	0.47	10.00	90.00
19,000	0.3/0.3	0.3/0.4	0.4/0.4	0.35	7.55	92.45
22,000	0	0	0	0	0	100
25,000	0	0	0	0	0	100
testigo	0.4/0.4	0.6/0.5	0.470.5	4.70		

CUADRO 7. Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Fusarium oxysporum* con extractos de diferentes partes vegetales de Rosa de castilla (*C. plicata*).

Tratamientos		E	XTRACTO D	E HOJA		
en	AB/CD R1	AB/CD R2	AB/CD R3	Promedio	% crecimiento	%inhibición
ppm	cms	cms	cms			
2,000	4.0/4.0	4.1/4.0	4.0/4.1	4.03	62.96	37.04
5,000	2.9/3.0	2.6/2.7	2.6/2.5	2.72	42.50	57.50
15,000	0.6/1.0	1.0/0.6	0.8/0.6	0.76	11.87	88.13
			EXTRACTO	DE RAÍZ		
2,000	5.0/5.0	4.8/5.0	4.7/5.0	4.90	76.56	23.44
5,000	4.5/4.0	4.8/4.5	4.0/4.9	4.45	69.53	30.47
15,000	3.8/4.0	3.8/3.9	3.5/3.6	3.76	58.75	41.25
			EXTRACTO	DE FLOR		
2,000	3.4/3.5	3.3/3.5	3.2/3.3	3.36	58.43	41.57
5,000	1.8/2.0	1.3/1.6	1.7/2.0	1.73	27.03	72.97
15,000	0.6/0.6	0.5/0.5	0.6/0.6	0.57	8.90	91.10
			EXTRACTO I	DE TALLO		
2,000	5.4/5.5	6.0/5.5	5.0/5.0	5.40	84.37	15.63
5,000	5.075.0	4.8/4.8	4.8/5.0	4.90	76.56	23.44
15,000	3.7/4.0	4.0/3.5	3.5/4.0	3.78	59.06	40.94
Testigo	6.0/6.5	6.5/6.4	6.4/6.6	6.40		

CUADRO 8. Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Colletotrichum coccodes con* extractos de diferentes partes vegetales de Pistacho (*P. lentiscus*).

CD R1 AB/CD R2 s cms 2.7 3.0/2.8 1.0 1.0/0.5 0	EXTRACTO 2 AB/CD R3 cms 2.6/2.4 1.0/0.5 0 EXTRACTO	2.70 0.80	% crecimiento  48.21  14.55	%inhibición 51.79 85.45 100
s cms 2.7 3.0/2.8 1.0 1.0/0.5 0	cms 2.6/2.4 1.0/0.5	2.70 0.80 0	48.21 14.55	85.45
2.7 3.0/2.8 1.0 1.0/0.5 0	2.6/2.4 1.0/0.5 0	0.80	14.55	85.45
1.0 1.0/0.5	1.0/0.5	0.80	14.55	85.45
0	0	0		
-	-		0	100
5.0 5.0/5.0	EXTRACTO	DE DAÍZ		100
5.0 5.0/5.0		DE KAIZ		
	5.0/5.0	5.00	90.90	9.10
4.8/4.5	5.0/5.0	4.63	84.18	15.82
2.8 3.5/3.0	2.6/3.5	3.06	55.63	44.37
	EXTRACTO	DE FRUTO		
5.5 5.0/5.5	5.4/5.5	5.40	98.18	1.82
5.0 4.875.0	5.0/5.0	4.93	89.63	10.37
4.0/4.0	4.5/5.0	4.42	80.36	19.64
	EXTRACTO	DE TALLO		
5.0 5.1/5.5	5.1/5.0	5.15	93.63	6.37
5.0 5.2/4.8	5.0/4.7	4.95	90.00	10.00
2.6 2.5/3.0	2.6/3.0	2.70	49.09	50.91
5.5 5.5/5.6	5.4/5.5	5.50		
	4.8/4.5 2.8 3.5/3.0 5.5 5.0/5.5 5.0 4.875.0 4.5 4.0/4.0 5.0 5.1/5.5 5.0 5.2/4.8 2.6 2.5/3.0	4.8/4.5 5.0/5.0 2.8 3.5/3.0 2.6/3.5 EXTRACTO 5.5 5.0/5.5 5.4/5.5 6.0 4.875.0 5.0/5.0 4.5/5.0 EXTRACTO 6.0 5.1/5.5 5.1/5.0 6.0 5.2/4.8 5.0/4.7 2.6 2.5/3.0 2.6/3.0	4.8/4.5 5.0/5.0 4.63 2.8 3.5/3.0 2.6/3.5 3.06  EXTRACTO DE FRUTO 5.5 5.0/5.5 5.4/5.5 5.40 6.0 4.875.0 5.0/5.0 4.93 4.5 4.0/4.0 4.5/5.0 4.42  EXTRACTO DE TALLO 5.0 5.1/5.5 5.1/5.0 5.15 6.0 5.2/4.8 5.0/4.7 4.95 2.6 2.5/3.0 2.6/3.0 2.70	4.0 4.8/4.5 5.0/5.0 4.63 84.18 2.8 3.5/3.0 2.6/3.5 3.06 55.63 EXTRACTO DE FRUTO 5.5 5.0/5.5 5.4/5.5 5.40 98.18 6.0 4.875.0 5.0/5.0 4.93 89.63 4.5 4.0/4.0 4.5/5.0 4.42 80.36 EXTRACTO DE TALLO 5.0 5.1/5.5 5.1/5.0 5.15 93.63 6.0 5.2/4.8 5.0/4.7 4.95 90.00 2.6 2.5/3.0 2.6/3.0 2.70 49.09

CUADRO 9. Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Colletotrichum coccodes con* extracto de hoja de Pistacho (*P. lentiscus*).

Tratamientos en ppm	AB/CD R1 cms	AB/CD R2 cms	AB/CD R3 cms	Promedio	%crecimiento	%inhibiciór
1,000	4.0/4.0	4.0/4.0	3.5/3.8	3.89	69.64	30.36
2,000	2.7/2.7	3.0/2.8	2.6/2.4	2.70	48.21	51.79
4,000	1.5/2.0	1.5/ 1.8	1.7/1.5	1.66	29.64	70.39
6,000	1.5/1.5	1.4/1.3	1.5/1.9	1.52	27.14	72.86
8,000	1.3/1.2	1.2/1.0	1.2/1.2	1.19	21.25	78.75
10,000	1.1/1.2	1.0/1.0	1.2/1.2	1.11	19.82	80.18
12,000	1.0/1.0	1.0/1.0	1.0/1.0	1.00	17.85	82.15
14,000	0.4/0.4	0.3/0.2	0.4/0.4	0.35	6.25	93.75
testigo	5.6/5.6	5.6/5.7	5.5/5.6	5.60		

CUADRO 10. Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Fusarium oxysporum* con extracto de flor de Rosa de castilla (*C. plicata*).

Tratamientos en ppm	AB/CD R1	AB/CD R2 cms	AB/CD R3 cms	Promedio	%crecimiento	%inhibición
1,000	4.2/4.2	4.2/4.2	4.1/4.2	4.19	72.86	27.14
2,000	3.4/3.5	3.3/3.5	3.2/3.3	3.36	58.43	41.57
4,000	3.0/2.8	2.9/3.1	2.9/3.1	2.98	51.82	48.18
6,000	2.1/2.3	2.2/2.1	2.0/2.0	2.11	36.69	63.31
8,000	1.8/2.0	1.4/1.5	1.6/1.7	1.67	29.04	70.96
10,000	1.4/1.3	1.4/1.4	1.3/1.3	1.35	23.47	76.53
12,000	1.3/1.0	1.3/1.3	1.3/1.4	1.26	21.19	78.09
14,000	0.9/1.0	0.7/1.0	0.9/1.2	0.95	16.52	83.48
testigo	6.0/5.8	5.8/5.6	5.7/5.6	5.75		

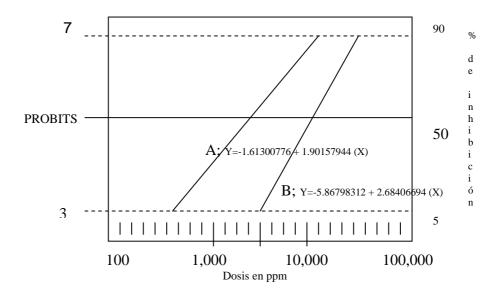


Figura 1. Líneas de respuesta dosis - % inhibición, para los extractos de Pistacho (A) y Rosa de Castilla (B) sobre *Colletortichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* respectivamente.

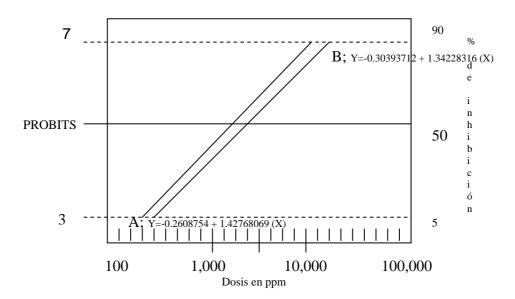


Figura 2. Líneas de respuesta dosis - % inhibición, para los extractos de hoja de Pistacho (A) y flor de Rosa de Castilla (B) sobre *Colletortichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* respectivamente.