UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA



EVALUACION DE LA ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE HOJASEN Flourensia cernua D.C. in vitro EN EL CONTROL DE LAS BACTERIAS FITOPATÓGENAS; Xanthomonas campestris pv. phaseoli (Smith) Dye, Erwinia carotovora pv. atroseptica (Van Hall) Dye y Pseudomonas cichorii (Swingle) Stapp.

Por:

JOSE EDILBERTO PERALTA BELLO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Marzo del 2006.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISION DE AGRONOMIA DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE HOJASEN *Flourensia* cernua D.C. in vitro EN EL CONTROL DE LAS BACTERIAS FITOPATOGENAS; *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye., *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye. Y *Pseudomona cichorii* (Swingle) Stapp.

Presentado por:

JOSE EDILBERTO PERALTA BELLO

TESIS

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por: Presidente del Jurado

Sinodal	Dra. Diana Jasso C	antu Sinodal
Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez.	Sinodal	Dr. Fco. Daniel Hernández Castillo
<u> </u>	M. C. Susana Solís C	raona.

CORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

MC. Arnoldo Oyervides García.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Marzo de 2006.

DEDICATORIAS

A las mujeres que más admiro, amo y respecto.

Ernestina Contreras Fernández

María del Carmen Moreno Fernández

María Elena Bello Moreno

De manera muy especial a la MEMORIA de mi bisabuelita Tina por que solo Dios sabe como la he extrañado, gracias madre mía por pensar en mí aun en esos momentos de la partida, hoy le dedico este trabajo de investigación como agradecimiento, la llevare siempre en mi corazón. Dios la guarde y bendiga siempre donde se encuentre.

A mi abuelita Carmen, por enseñarme a dar de intensa forma y nada esperar, por los consejos, por enseñarme como es la vida, por el ejemplo de la honradez, por los regaños y desacuerdos, por las verdades y descontentos.

A mi madre, con todo mi corazón por darme el regalo de la vida, por darme su amor incondicional, por estar a mi lado en el momento justo y el más anhelado, cuando necesito sentir sus besos, sus abrazos, escuchar un te quiero o un te amo. La recordaré y cada vez que venga a mi lado haré de esas horas las más felices de su vida, por esas lágrimas derramadas, por darme toda su vida.

A mis hermanos:

Lupita,

Carmen

Abel Peralta Bello

Con eterno cariño por la inmensa confianza que en mi depositan, por que ellos han sido parte fundamental que impulsa mis deseos de superación, por el gran amor que mantiene unida nuestra familia y que es plataforma básica de nuestros logros.

A las familias Bello Moreno y Contreras, por la compresión y apoyo total que incondicionalmente me han brindado, por las palabras de aliento que me impulsaron a alcanzar esta meta, por aumentar mi fe en la esperanza en que siempre habrá tiempos mejores y por todo su cariño, para ustedes mi eterno agradecimiento.

A la familia Rodríguez Cayetano, con profundo respeto, admiración, gran cariño y afecto, por considerarme un miembro más de la gran familia, por demostrarme de distintas maneras lo importante que soy, por que han confiado en mi capacidad en todo momento.

De manera muy especial a mi amada compañera Ma. Teresa Rodríguez Cayetano, nuestro amor tan grande es que de el pecho sale y tenemos que gritar nos queremos y cada día mas, por la vida iremos ya siempre juntos nada habrá que nos pueda separar pues lo nuestro no tiene final tantas cosas hay que hacer tantos sueños que vencer la vida corta será y tiempo nos faltara, nuestro amor tan grande es y tenemos que gritar nos queremos y cada día mas. Gracias Amor por todo lo vivido con migo.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por haberme regalado la dicha de estar hoy en esta vida, de ser lo que ahora soy, por haberme elegido las mejores Madres del mundo, por guiarme a cada instante aún más en los momentos difíciles y por iluminarme para continuar y concluir mis estudios.
- A mi Alma Mater, por brindarme la oportunidad de realizar otro sueño mas de mi vida, por las facilidades a lo largo de mi carrera, por que después de mi hogar es mi segunda casa en la cual encontré consuelo, apoyo y ahora tengo un inmenso cariño hacia ella por ello siempre te llevare en mi corazón y pondré muy en alto tu nombre
- A la Dra. Diana Jasso Cantu y al Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez, por darme la oportunidad de trabajar con ellos en este proyecto, por su atención incondicional, por la confianza depositada en mi persona, por su dedicación y empeño en todo lo que realizan. Así como por su valiosa amistad, para ustedes mi mas Sincero y Profundo Agradecimiento.
- Al Dr. Daniel Hernandez Castillo, por sus opiniones, aportaciones, consejos y contribución en la elaboración del presente trabajo.
- A la M.C. Susana Solis Gaona, por darme la oportunidad de trabajar con ella en este proyecto.
- Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECYT), por el incentivo económico proporcionado para llevar a cabo el presente trabajo de investigación.
- A Dr. Froylán Rincón Sánchez del Departamento de Fitomejoramiento, por su acertada participación en la parte estadística e interpretación de resultados.
- Al Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios (CISEF), por permitirme realizar las evaluaciones correspondientes en sus instalaciones y en especial a T.L.Q. María Cristina Sánchez F. por su contribución y participación oportuna para la ejecución de este trabajo, gracias por compartir sus conocimientos, por brindarme su mano amiga en una etapa tan importante. Sin olvidar a T. L. Q Silvia Ovalle M.por brindarme parte de sus experiencias y conocimientos, Milgracias.

Con profundo respeto, admiración, a las Técnicas Académicas Ma. Guadalupe Moreno E, Edith E. Colunga y MA Leticia Rodríguez por su colaboración en la obtención de los extractos de hojasén en el laboratorio de fitoquimica y a las a las Técnicas Académicas Ma. Guadalupe Pérez O. y Guillermina Reyna S. del departamento de parasitología por el apoyo y colaboración en la presente investigación.

A todos los **Profesores del Departamento de Parasitología Agrícola**, por sus conejos y orientaciones durante toda mi etapa en la universidad.

A mis compañeros de la generación C por que a su lado no hubo momentos para sentirme triste o solo, por que 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 ellos

A mis amigos José Antonio Zamano Z., Bernardo Domínguez C., Hugo Moreno M., Jesús Zúñiga M., Flaviano Flore J., Cristian I. S., Arón Vázquez l., Fabian Castillo N. a quienes admiro por su capacidad de luchar por lo que quieren, por su carácter alegre, por su franqueza y sinceridad. Hoy quiero agradecerles el que me hayan brindado su mano amiga. No hay palabras que describan todo lo que aprendí y sigo aprendiendo a su lado, solo se, que mi vida se transformó, al conocer unas personas tan excepcionales como ustedes...; Gracias por todo!

INDICE DE CONTENIDO

INDICE			Paginas DE
INDICE			DE
INDICE	DE	CUADROS	DEL
	, ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,		
	CCION		
REVISION	I		DE
LITERATU	JRA		
		••	3
Bac	terias Fitopatógenas		3
	Características morfológicas		
	Síntomas producidos		
	Factores que condicionan el desarro	ollo	5
	Temperatura		5
	La humedad		5
	Los suelos minerales		6
	La aeración		6
	Modo de acción		6
	Mecanismos de diseminación		6
Cara	acterísticas del género Xanthomonas		7
	Descripción general		7
	Caracterización bioquímica		7
	Patogénesis en planta		7
	Xanthomonas campestris pv. phase	eoli	8
	Ubicación taxonómica		8

Importancia económica	8
Hospederos	9
Distribución geográfica	9
Etiología	9
Infección	10
Síntomas.	11
Epidemiología	11
Estrategias de control	12
Características del género Erwinia.	13
Descripción general	13
Caracterización bioquímica	13
Erwinia carotovora pv. atroseptica	15
Ubicación taxonómica	15
Importancia económica	15
Hospederos	15
Distribución geográfica	16
Etiología	16
Síntomas	16
Epidemiología.	17
Estrategias de control.	18
Características del género Pseudomonas	19
Descripción general	19
Pseudomonas cichorii	20
Ubicación taxonómica	20
Importancia económica	20
Hospederos	21
Distribución geográfica	21
Síntomas.	21
Epidemiología	22
Estrategias control	

	Uso indiscriminado de los plaguicidas			23
	Consecuencias al medio ambie	nte		23
	Efecto sobre los enemigos natu	ırales		23
	Efecto sobre organismos super	iores		24
	Resistencia a plaguicidas			24
	Alternativas para el futuro			24
	Uso de extractos vegetales			25
	Importancia de los extractos vegetales	i		25
	Respuesta de bacterias fitopatógenas a extrac	tos vegetales		26
	Efectos			sobre
	Xanthomonas			
				26
	Efectos			sobre
	Erwinias			
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •			27
	Efectos sob		Pseudo	
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •			28
	Características del hojasén			
	Ubicación taxonómica de F. ce.	rnua D.C		
				29
	Descripción botánica			
				29
	Reproducción			
	Importancia	다	gornus	30 D.C
	Importancia	F .	cernua	30
•••••	Nombres comunes			
	Nombles Committees	,		30
	Distribución			del
	género			31

Distribución	del
hojasén	31
Efectos contra organismos	32
MATERIALES Y METODOS	33
Ubicación del área experimental	33
Colecta del material vegetal.	33
Obtención de extractos.	34
Rendimiento de los extractos.	34
Transferencia de las bacterias.	34
Realización de los bioensayos	35
Toma de datos	37
Método de análisis	37
RESULTADOS Y DISCUSION	38
CONCLUSIONES	50
LITERATURA CITADA	51
APÉNDICE	57

INDICE DE CUADROS

Cu	Cuadro	
1.	Arreglo de los tratamientos de extractos de <i>F. cernua</i> D.C sobre las especies de bacterias a evaluar, a diferentes concentraciones	37
2.	Rendimiento promedio de la extracción secuenciada; hexano, eter, etanol y la extracción de la mezcla metanol:cloroformo (1: 1) de extractos de hojasén <i>Flourensia cernua</i> D. C. expresado en porcentaje	
3.	Interacción de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de UFC/mL de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> (Smith) Dye a 72 de incubación	

4.	Interacción de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de las UFC/mL de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye a 24 h de incubación	44
5.	Interacción de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de las UFC/mL de <i>Pseudomonas cichorii</i> (Swingle) Stapp a 24 h de incubación	47.
6.	Concentración de porcentajes de inhibición de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) del factor A (extractos) para las tres especies de bacterias evaluadas	48
7.	Concentración de porcentajes de inhibición de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) del factor B (concentración) para las tres especies de bacterias evaluadas	49

INDICE DE FIGURAS

Fig	guras	Número
1.	Porcentaje de inhibición de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli (</i> Smith) Dye por efecto de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C	39
2.	Porcentaje de inhibición de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli (</i> Smith) Dye a diferentes concentraciones de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C	40
3.	Porcentaje de inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye por efecto de extractos de hojasén <i>Flourensia cernua</i> D.C	42
4.	Porcentaje de inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye a diferentes concentraciones de extractos de jasén <i>Flourensia cernua</i> D.C	43

5.	Porcentaje de inhibición de <i>Pseudomonas cichorii</i> (Swingle) Stapp por efecto de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C.	45
6.	Porcentaje de inhibición de <i>Pseudomonas cichorii</i> (Swingle) Stapp por efecto de las concentraciones de extractos de hoias de <i>Flourensia cernua</i> D.C.	46

INDICE DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro		Número	
1.	Inhibición de los extractos de <i>Flourensia cernua</i> D. C. obtenidos con diferentes disolventes sobre <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>phaseoli (</i> Smith) Dye, tomados a las 72 h de incubación	58	
2.	Análisis de varianza de la inhibición de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> (Smith) Dye por efecto de extracto y concentración de <i>Flourensia. cernua</i> D.C.		
3.	Comparación de medias por Tukey (P=0.05) del factor A (extractos) de <i>Flourensia cernua</i> D.C sobre la inhibición de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> . (Smith) Dye		

4.	Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentración) de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. sobre la inhibición de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> (Smith) Dye
5.	Inhibición de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. obtenidos con diferentes disolventes sobre <i>Erwinia carotovora</i> pv <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye tomados a las 24 h de incubación
6.	Análisis de varianza de la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye por efecto de extractos y concentraciones de <i>Flourensia</i> . <i>cernua</i> D.C.
7.	Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de <i>Flourensia cernua</i> D.C sobre la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye.
8.	Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. sobre la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye.
9.	Análisis de varianza de la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye por efecto de extractos y concentraciones de <i>Flourensia</i> . <i>cernua</i> D.C.
10.	Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de <i>Flourensia cernua</i> D.C sobre la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye.
11.	Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. sobre la inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>atroseptica</i> (Van Hall) Dye.
12.	Inhibición de los extractos de <i>Flourensia cernua</i> D.C. obtenidos con diferentes disolventes sobre <i>Pseudomonas cichorii</i> (Swingle) Stapp tomados a las 24 h de incubación
13.	Análisis de varianza de la inhibición de <i>Pseudomonas cichorii (</i> Swingle) Stapp por efecto del extracto y concentración de <i>Flourensia cernua</i> D.C
14.	Cuadro 2. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de <i>Flourensia cernua</i> D.C sobre la inhibición de <i>Pseudomonas cichorii</i> (Swingle) Stapp

15. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.

64

INTRODUCCION

El hombre continuamente preocupado por producir sus alimentos se ha enfrentado con una serie de problemas sociales y morales de alto costo ecológico y económico, debido al combate de las enfermedades causadas por los organismos patógenos de plantas que amenazan la producción agrícola. Este trabajo de investigación hace énfasis en las bacterias fitopatógenas. García (1984) menciona que las bacterias son organismos microscópicos responsables de fuertes pérdidas económicas a la agricultura, como consecuencia de su ataque a las plantas cultivadas

En la agricultura moderna la aplicación excesiva e indiscriminada de plaguicidas para el control de enfermedades agrícolas ha ocasionado un sin número de problemas de resistencia, afectación del medio ambiente y además de graves complicaciones a la salud humana, debido al consumo de plaguicidas de residuos tóxicos en los productos agrícolas. Por otro lado presenta consecuencias económicas debido a la utilización de sustancias que eleva los costos de producción.

Ante esta situación, el nuevo enfoque en el combate de las bacterias se dirige hacia el uso de otras alternativas de protección de cultivos en los que se trata de integrar nuevas opciones encaminadas a la protección y aumento de cosechas pero con alternativas no perjudiciales; para lo cual, se pretende explorar en la utilización de sustancias de origen natural, que las mismas plantas han desarrollado a través de la evolución tratando de limitar poco a poco el uso de agroquímicos. 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 desparecen con facilidad del medio ambiente aéreo y del suelo después de que son aplicados en el campo (Tanaka y Andomuro, 1993).

La tendencia mundial por encontrar productos para el control de enfermedades en los cultivos y en especial las causadas por bacterias fitopatógenas, como *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye que ocasiona el tizón común del frijol; *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van hall) Dye causante de la enfermedad llamada pierna negra de la papa y *Pseudomonas cichorii* (Siwingle) Stapp que ocasiona la bacteriosis de la lechuga, y que afectan a diversos cultivos en varios estados de la república Mexicana, han creado la necesidad de detectar y estudiar plantas que tengan un potencial de uso como agroquímicos naturales vegetales, debido a los metabolitos secundarios que biosintetizan y que tienen un efecto bactericida, tratando con ello de que en un futuro se puedan generar productos orgánicos derivados de la misma para el control de enfermedades agrícolas.

Existen antecedentes de numerosos reportes promisorios de evaluación de diversos extractos vegetales con actividad sobre diversos problemas fitosanitarios. En este con texto el caso del hojasén (*Flourensia cernua* D.C.) ha demostrado efectos fungistáticos (Sandoval,2005; Galván, 2005; Gamboa *et al.* 2002; Jasso *et al.* 2005). A su vez Mata *et al.* (2003) demostraron, que *F. cernua* tiene compuestos químicos que inhiben el crecimiento de otras plantas. Lo anterior marca la pauta para realizar estudios para determinar su posible efecto sobre bacterias fitopatógenas *in vitro* y en su caso generar nuevas alternativas con sustancias de origen vegetal para el control de esos problemas agrícolas.

Con base en lo antes señalado, se planteó como objetivo general de la presente investigación, determinar si los extractos de *F. cernua* presentan efecto bactericida *in vitro* en el control de bacterias fitopatógenas. Como objetivos específicos se tienen los siguientes:

- Comparar el efecto de los extractos hexánicos, etéreos, etanólicos, y la mezcla metanol—cloroformo de hojas de *F. cernua* sobre tres bacterias fitopatógenas.
- Determinar la sensibilidad de las bacterias; *X. campestris* pv. *phaseoli*, *E. carotovo* pv. *atroseptica* y *P. cichorii* a diferentes concentración de los extractos de *F. cernua*.

LITERATURA REVISADA

Las Bacterias Fitopatógenas

Oku (1994) menciona que en la naturaleza el número de bacterias formalmente descritas es alrededor de 1600 especies, considera que menos de 200 especies son responsables de causar enfermedades en las plantas. Sin embargo, Agrios (1996) considera, que se han encontrado cerca de 80 especies fitopatógenas, muchas de las cuales constan de numerosos patovares que son cepas que solo difieren debido a las especies vegetales que ellas infectan.

Sosa *et al.* (1997) comenta, que las bacterias fitopatógenas están ampliamente distribuidas en las regiones agrícolas del mundo, y cuando existen condiciones favorables para su desarrollo provocan pérdidas económicas tan graves que llegan a ser catastróficas. Esto se debe a la capacidad de las bacterias en producir sustancias dañinas como enzimas tóxicas u otras que afectan a las plantas cuando son invadidas (Anaya *et al.*, 1999). Por otro lado señala, que todos los organismos patógenos como las bacterias adquieren importancia económica cuando sus poblaciones alcanzan niveles epifíticos, en condiciones óptimas las bacterias exhiben un potencial de multiplicación mayor a cualquier otro organismo fitopatógeno, ya que se conoce que una célula bacteriana puede producir en 24 h aproximadamente 17 millones de células (Sosa *et al.*, 1997).

Según NASA (1981) citado por Hernández (2000) mencionan que el número de enfermedades importantes causadas por las bacterias, en contraste con las causadas por los hongos, es relativamente pequeño; Sin embargo, ciertas enfermedades bacterianas han sido muy destructoras, ocasionando pérdidas considerables a los árboles frutales; la principal pérdida de las frutas y hortalizas frescas; ya sea en tránsito, almacenamiento o en mercado, se atribuyen a las bacterias.

Características morfológicas

Según Agrios (1996) la mayoría de las bacterias fitopatógenas tienen forma de bastón, las únicas excepciones son un par de especies de *Streptomyces* las cuales se caracterizan por ser filamentosas. Los bastones son mas o menos cortos y cilíndricos, en los cultivos jóvenes, tienen una longitud que va de 0.6 a 3.5 mm, en los cultivos viejos o en altas temperaturas, los bastones de algunas especies se tornan mas largos e incluso pueden tener forma filamentosa y en ocasiones pueden encontrarse dispuestas en pares o en cadenas cortas.

Además las paredes celulares de la mayoría de las especies de bacterias están cubiertas por un material viscoso y gomoso que puede ser delgado (capa mucilaginosa) o denso,

formando una masa relativamente amplia en torno a la célula (cápsula). La mayoría de las bacterias fitopatógenas poseen delicados flagelos en forma de filamentos que a menudo son considerablemente más largos que las células que los formaron. En algunas especies bacterianas presentan un solo flagelo, mientras que otras poseen un ramillete de ellos en cada extremo, otras poseen flagelos perítricos, es decir distribuidos sobre toda su superficie.

Por otra parte las bacterias aparecen translúcidas o de color blanco – amarillo en el microscopio compuesto y es muy dificil observarlas con detalle. Cuando se permite que una sola bacteria se desarrolle (Reproduzca) sobre la superficie o en interior de un medio sólido, su progenie en un poco tiempo produce una masa notoria denominada colonia. Las colonias de las distintas especies de bacterias varían en tamaño, forma de los bordes, elevación, color u otras características y en ocasiones dichas variaciones son características de una determinada especie. El diámetro de dichas colonias puede ser desde una fracción de milímetro hasta varios centímetros y pueden ser circulares, ovoides o irregulares. Sus bordes pueden ser lisos, ondulados, angulares, etc. y su elevación puede ser plana, saliente, en forma de domo, rugosa, etc. Las bacterias fitopatógenas en forma de bastón se reproducen mediante el proceso asexual conocido como fisión binaria, pueden ser aerobias o anaerobias, y en ambos casos patógenas obligadas o facultativas; no forman endosporas, excepto *Bacillus y Clostridium*. La mayoría son gram negativas, excepto *Clavibacter* (antes *Corynebacterium*), *Streptomyces, Clostridium* y *Bacillus*. (Agrios, 1996).

Síntomas producidos

Las bacterias fitopatógenas ocasionan el desarrollo de diversos tipos de síntomas en las plantas, producen manchas y tizones foliares, pudriciones blandas de frutos, raíces y órganos almacenados, marchitamientos, crecimientos excesivos, hipertrofias, malformaciones, sarnas, cancros, etc. Cualquiera de estos tipos de síntomas puede ser producido por las bacterias patógenas de varios géneros y cada género contiene algunos patógenos capaces de producir diferentes tipos de enfermedades (Agrios, 1996)

Las bacterias se presentan sobre especies de casi todas las familias de plantas. Las bacterias en condiciones no favorables pueden vivir en el tejido infectado, en el suelo o en

algún insecto vector. Las bacterias que producen tizones y cáncer invaden el cambium; y las que producen marchitamientos colonizan el xilema. La mayoría de bacterias fitopatógenas se desarrollan primeramente en la planta hospedera como parásitos y parcialmente en el suelo como saprofitos (Agrios, 1996).

Factores que condicionan el desarrollo (según Lopez, 1994)

Temperatura. Esta condiciona grandemente la actividad de estos agentes patógenos, la mayoría de las bacterias necesitan una temperatura de 20 a 35 °C, cuando esto ocurre, se ve una multiplicación intensa que unida a las posibilidades parasitarias mas agudas provoca la muerte rápida de las plantas atacadas; sin embargo, existen especies que son dañadas por temperaturas muy elevadas y que pierden su poder fitopatógeno entre 10 y 20 °C. y hay otras que son muy activas entre 60 y 80°C

La humedad. Esta permite igualmente el desarrollo optimo de los seres vivientes y esta agua es donde están presentes los productos químicos que secretan las bacterias para nutrirse, un exceso de agua en el suelo, daña la mayor parte de las plantas, provoca un desequilibrio en favor de los agentes bacterianos.

Los suelos minerales. Estos tienen una acción indirecta sobre la actividad de las bacterias ya que modifican ligeramente la composición de los tejidos vegetales; así, los suelos nitrogenados permiten a las bacterias invadir mas fácilmente las plantas ya que vuelvan a las paredes celulares mas frágiles.

La aeración. Esta se refiere a la del suelo y es muy importante, ya que la reacción de las bacterias a este factor es variable según las especies; al respecto, ciertas especies reclaman obligatoriamente oxígeno (Aerobias), otras solo desarrollan en ausencia de este gas (Anaerobias), y otras tienen la capacidad de ser facultativas

Modo de acción

La actividad de las bacterias en las plantas es presentada por sustancias que estos organismos son capaces de secretar y que provocan lesiones en los vegetales o una reacción de defensa por parte de la planta. Las sustancias que producen y secretan las bacterias son las siguientes, A) Toxinas, responsables de algunas lesiones necróticas y otras marchiteces. B)Enzimas que presentan propiedades disolventes de ciertos componentes, algunas pueden ser; pécticas-celulíticas, proteolíticas, amilolíticas, como la celulosa, amilasa y lactosa respectivamente. C) Sustancias de crecimiento que inducen una aceleración y al mismo tiempo una anomalía en las divisiones celulares.

Mecanismos de diseminación

A) El hombre, cuando este utiliza semillas infectadas, granos, injertos, y bulbos se dispersa la enfermedad, a través del enraizamiento, por la movilización de material vegetal de lugares infectados a otros sitios, etc. B) El viento, las plantas contaminadas dispersan la enfermedad como en *E amylovora*, ó cuando se dañan las hojas por el viento. C) La lluvia, esta juega un papel muy importante en las bacterias que atacan órganos aéreos, ya que se transportan de arriba a abajo como en *P phaseolicola*. *D*) Vectores, los animales, insectos, nematodos entre otros pueden infecta plantas sanas (López, 1994).

Características del Género Xanthomonas

Descripción general

Sosa *et al.* (1997) señalan que las bacterias de este género son bacilos cortos gram (-), rectos y monótricos, con dimensiones de 0.2-0.8 y de 0.6-2.0 μ; no producen vainas ni endosporas. Se desplazan por medio de un flagelo polar. Cuando se desarrolla en un medio de agar, a menudo son de color amarillo. Todas las especies son fitopatógenas y se encuentran solo en asociación con las plantas o con órganos de estas.

Caracterización bioquímica.

Producen un pigmento carotenoide amarillo no difusible; el crecimiento de sus colonias tiene apariencia butirosa (mucoide) Su metabolismo es estrictamente oxidativo y utilizan el oxígeno molecular como aceptador de electrones. Son oxidasa-catalaza positivas y no producen aceitoina ni indol. Son rojo de metilo-negativas y originan ácidos de muchos de muchos carbohidratos, pero no de la ramnosa, inulina, anoditol, dulcitol, inocitol, salicina y raramente del sorbitol. La mayoría de las especies hidrolizan el tween 80 rápidamente, pero no reduce el nitrato, ni produce ácido sulfhídrico a partir de la caseína (Sosa *et al*, 1997).

Patogénesis en planta

La especie, *X. campestris*, presenta muchos patovares, la mayoría de los cuales son altamente específicos por huésped; son típicamente patógenos transmitidos por semillas, causan lesiones foliares, aunque muchos pueden invadir también el sistema vascular causando marchiteces y muertes progresivas; algunos existen como epifitos, lo que puede ser una característica común de los patógenos de esta especie (Lelliott y Stead 1987).

Messiaen *et al.* (1995) citan que las especie *Xanthomonas* no constituyen un grupo homogéneo, su óptimo térmico a menudo es más elevado que las *Pseudomonas* y son particularmente temibles en condiciones tropicales. Según la rapidez del crecimiento podemos establecer una distinción entre las *Xanthomonas* de crecimiento rápido y las *Xanthomonas* de crecimiento lento. Las primeras están agrupadas mayoritariamente dentro de la gran especie *X. campestris*, de las cuales podemos distinguir numerosos patovares que incuban en las hortalizas por ejemplo; *campestris*, *phaseoli*, *vesicatora*. Las segundas provocan enfermedades que afectan a la caña de azúcar y al álamo. Entre ellas destaca *Xanthomonas fragariae*.

Tizón Común del Frijol

Ubicación taxonómica

La posición taxonómica de esta bacteria de acuerdo a Goto (1994) se presenta en seguida:

Reino Procaryotae

División Gracilicutes

Clase Protobacteria

Orden Pseudomonadales

Género

Familia Pseudomonadaceae

Xanthomonas

Especie campestris pv. phaseoli.

Importancia económica

En los Estados Unidos fue la enfermedad de mayor importancia económica de este cultivo en 1976, causando una pérdida estimada de cuatro millones de dólares. En otros países ha llegado a reducir los rendimientos de un 10 a un 20 %, en Canadá se han registrado daños hasta del 38 %. Por otro lado, en Colombia se han determinado daños del orden de 22 % en infecciones naturales, y del 45 % en inducidas (Kendy & Alarcorn, 1980). A su vez Campos (1977) menciona, que en nuestro país ésta enfermedad causa daños que varían de un 10 a 50%.

Esta bacteria puede provocar una defoliación completa en la planta, y como se puede diseminar a través de semillas infectadas es un problema potencial para otras regiones donde no está presente la enfermedad. Esta bacteria ha podido sobrevivir en semillas de frijol por 3, 10 y 15 años conservando su variabilidad y su virulencia.

Hospederos

El huésped principal es el frijol (*Phaseolus vulgaris*) en sus distintas variedades. Esta bacteria es capaz de atacar a diversas leguminosas como *P. lanatus*, *P. multiflorus*, *P.mungo*, *P. aureus*, *P. coccineus*, *P. acutifolius*, *P.angulares*, *Lablab níger*, *Strophostyles helvula*, *Glycine max*, *Stizolobium deeringianum*, *Lupinus polyphylus y Vigna sinesis* (Zaumeyer y Galvez 1957 citados por Hernández, 2002).

Distribución geográfica

El patógeno esta presente en la mayoría de las áreas del mundo en que se utiliza para siembra del frijol aunque es más común en climas cálidos subtropicales, y menos frecuente en climas templados. Esta muy extendida en América del Norte, en Europa su presencia es esporádica y no muy extendida en España; pero se ha reportado en Finlandia, Francia, Holanda, Suiza, Moldava, Grecia, Rumania y otras áreas antigua Unión de República Soviética Smith (1992). Por una parte Campos (1977) reporta que este tizón común se presenta con mayor intensidad en regiones de México, como; Chihuahua, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Estado de México, Puebla y Tlaxcala.

Etiología

X. campestris pv. *phaseoli* es un bacteria en forma de varilla; es unicelular, gram (-), con un solo flagelo polar, aerobia; mide de 0.4 a 0.9 x 0.6 a 2.6 μ. En agar produce colonias convexas de crecimiento mucoide de color amarillo, húmedas brillantes; pigmento amarillo que es extracelular y es un carotenoide tipo alcohol insoluble en el agua denominado xanthomonadina. Hidroliza fuertemente la caseína y almidón. Existen cuatro tipos de colonias *de X. phaseoli;* rugosa, lisa, semimucoide y mucoide; las más virulenta es la del tipo mucoide (Campos, 1977).

Infección

La enfermedad tiene dos fases: una fase sistémica, debida a la invasión del sistema vascular, y una fase local de infección parénquima tica. La infección sistémica da lugar a síntomas generalizados, cuya gravedad varía con la proporción de sistema vascular afectado; si la infección es leve, las plantas aparecen ligeramente achaparrados y puede manifestarse una marchitez incipiente reversible, en de días cálidos y secos. Si la infección es mas grave, tiene lugar a menudo una marchitez rápida de plántulas, especialmente a temperaturas de 25-35 °C

y en las plantas adultas puede marchitarse y morir una hoja, una rama o toda la planta; normalmente la enfermedad progresa en este orden.

El patógeno puede invadir otros tejidos además del sistema vascular, lo que en el tallos puede dar lugar a lesiones anillantes en el nudo de los cotiledones, con mas frecuencia en los de las hojas superiores; las lesiones resultantes son pardo rojizas y a menudo debilitan el tallo causando su rotura con el viento. En hojas y vainas pueden aparecer lesiones similares a las debidas a invasión estomática especialmente a temperaturas 18 °C; en las lesiones foliares las venaciones a menudo son pardo rojizas. Las semillas pueden invadirse vía el pedicelo y el funículo, lo que causa una gama de síntomas que va desde pequeñas manchas amarillas en el hilum a cambios de coloración amarillentos de parte o toda la envuelta seminal, a menudo va acompañado de un arrugado debido a la invasión del área que subyace a la envuelta; estos síntomas se detectan con facilidad en las semillas blancas pero no en las coloreadas. Las plántulas de semillas infectadas tienen a menudo puntos de crecimiento enfermos que mueren dejando solo los cotiledones y se denomina síntoma de cabeza de serpiente (Smith *et al.*), 1992).

Bajo condiciones naturales, *X c.* pv. *phaseoli* penetra a través de los estomas, hidatados por heridas; posteriormente invade los espacios intercelulares causando una disolución gradual de la lamela. Mas tarde, las células comienzan a desintegrarse con la formación de cavidades bacterianas. Las bacterias pueden penetrar en el tallo a través de los estomas del hipocotilo, epicotilo y por cotiledones infectados. La bacteria puede causar taponamiento de los vasos del xilema y consecuentemente marchitamientos (Schwartz y Gálvez, 1980).

Síntomas

Los primeros síntomas de la enfermedad son puntitos de color verde húmedo que sé necrosan. Generalmente, la necrosis se inicia en le borde las hojas y puede invadir gran parte de las mismas; la necrosis se inicia también en el centro de la hoja y se desplaza hacia los bordes, tomando forma de dedos entre las nervaduras; llega a cubrir gran parte de la hoja y

causa defoliación prematura., sobre las lesiones aparecen exudados bacterianos de color amarillo y cuando se secan adquieren una coloración rojiza (No es muy frecuente el daño en las vainas y tallos). Cuando la bacteria penetra a la semilla esta se chupa o arruga en comparación con la semilla sana (Campos, 1977).

Epidemiología

Requiere de temperaturas cálidas y causan los mayores daños cuando la temperatura varía entre 27 y 28 °C. la temperatura y la humedad desempeñan un papel muy importante en el desarrollo de esta enfermedad (Hernández, 2000). Pueden sobrevivir hasta por 3 años en humedades de 20 a 50 %. aunque las bacterias fitopatógenas no forman esporas, muchas de ellas resisten la desecación y soportan sequías prolongadas. *X. c* pv *phaseoli* produce un polisacárido extracelular en medio de cultivo y en el hospedante donde sobrevive por periodos prolongados (Schwartz y Galvez, 1980).

Los focos primarios normalmente se originan a partir de semillas infectadas, en las que la bacteria puede sobrevivir durante muchos años. En algunas regiones puede tener lugar la invasión en restos vegetales en el suelo, lo que no siempre es así. A partir de estos focos, la dispersión es por lluvia y viento, riego de aspersión y posiblemente por insectos, aunque no esta clara la importancia de los insectos vectores y del papel que representa al producir heridas por las que pueda penetrar las bacterias. Aparte de la contaminación directa o de la infección en planta, las semillas pueden contaminarse por restos infestados durante la recolección o los tratamientos. También puede haber dispersión al empapar las semillas en las suspensiones de bacterias ondulantes. La gravedad de la enfermedad es máxima en condiciones de humedad elevada y temperaturas de unos 28 °C. causa que la semilla infectada pueda provocar daños cuantiosos, ya que un 0.02 % de las mismas pueden ocasionar una epifitia (Wallen y Galway, 1979; Wimalajeewa y Nancarrow, 1980; Kaiser y Wakili, 1978 citados por Smith, 1992).

Estrategias de control

Cultural.- La rotación de cultivos durante tres o más años es muy recomendable. Además, para reducir la incidencia de esta enfermedad se siguiere eliminar los residuos de cosecha anterior. Es conveniente sembrar semilla libre de bacterias la que puede obtenerse en regiones de México donde no prospera la enfermedad (López, 1994).

Genético.- Mediante la evaluación de líneas y variedades de frijol bajo condiciones de campo donde la enfermedad se presenta en forma natural, se han seleccionado variedades resistentes al tizón común, como la Antigua, Bayo 160, Bayo 66, Negro 171, Pinto 133, Durango 225, Puebla 152, Negro Puebla, Negro 150 y Pinto 163 (Crispín *et al.*,1970).

Químico.- Hasta le fecha se ha evaluado varios productos químicos contra esta enfermedad aplicados al follaje; entre otros, podemos mencionar los siguientes, Sulfato de cobre, antibióticos a base de estreptomicina y oxitetraciclina, caldo bordelés, y productos elaborados con antibióticos hacen que se incremente el costo de aplicación; además, de que se pueden formar mutantes resistentes a los antibióticos, en México se utiliza poco este tipo de productos, ya que se cuentan con variedades resistentes a esta enfermedad (Campos, 1977).

Características Del Género Erwinia

Descripción general

Smith *et al.* (1992) señalan, que es un género algo heterogéneo de bacterias gram (-), bacilares (0.5-1.0 x 1 -3 μ), que aparecen aisladas, en parejas o a veces en cadenas cortas, las especies de *Erwinia* son anaerobias facultativas. Agrios (1996) reporta, que se desplaza por medio de varios o muchos flagelos perítricos. Algunas especies de *Erwinias* no producen enzimas pépticas y causan marchitamientos o enfermedades necróticas (como el grupo *E.* "*amylovora*"), mientras que otras presentan una notable actividad pectolítica y causan pudriciones blandas en las plantas (como el grupo *E.* "*carotovora*").

Caracterización bioquímica

Producen ácidos de la glucosa, fructuosa, galactosa, metilglucósidos, sacarosa, manosa y ribosa, raras veces del adonitol y la melecitosa. Utilizan el acetato, malato, gluconato, fumarato y succinato, pero no al oxalato, benzoato o propionato. Pueden ó no producir gas de la glucosa; descarboxilan la arginina, ornitina y la lisina, y origina ácido a partir de la salicina. Para su cultivo se emplea el medio YDA. (Winslow *et al.*, citados por Smith, 1992)

Messiaen et al. (1995) señalan, que en este género se distinguen básicamente dos grupos:

- Las Erwinias pectolíticas.- También denominadas *Pectobacterium*, que se subdividen en dos especies *E. carotovora* var. *atroseptica*, adaptada a bajas temperaturas, que es agente de podredumbre de órganos carnosos, y *E. chrysanthemi*, adaptada a temperaturas elevadas de la cual se han manifestado algunos patovares fuera del dominio de las hortalizas que se expresan en plantas florales, *Diffenbachia*, maiz, etc.
- Las Erwinias no pectolíticas.- Entre los cuales podemos encontrar verdaderos agentes parásitos de acusada especificidad parasitaria por ejemplo; *E. tracheiphila*, agente de la traqueobacteriosis de las cucurbitáceas y saprófitos corrientes como *E. herbicola*, un agente invasor secundario universal de lesiones de origen fúngico o bacteriano, que no deben confundirse con las *Xanthomonas*, aunque sus colonias de rápido crecimiento se caractericen también por un color amarillo.

Por su parte Cowan (1974); Lelliot (1974), Mayea y Padrón (1983) reconocen tres grupos de *Erwinia que son: amylovora, herbicola y carotovora*.

A) El primer grupo comprende a las especies: *E. amylovora, E. tracheiphila, E. nigrifluens, E. querrcina y E. rubrifaciens*. Las bacterias de este grupo no hidrolizan la caseína, aceite, gelatina ni almidón; no reducen los nitratos y no producen gas de la glucosa ni del indol. Tampoco producen ácidos de la lactosa, celobiosa, maltosa, melecitosa, adonitol y dulcitol.

B) El segundo grupo incluye a *E. herbicola* var. *herbicola* y var. *ananas, E. stewartii y E. uredovora*. Estas bacterias no hidrolizan al aceite, caseína ni almidón; producen gas de la glucosa; son ureasa-negativas y no producen ácido ni a partir del dulcitol ni de los metilglucosidos.

C) Las bacterias del tercer grupo causan pudriciones muy características y comprende a las especies *E. carotovora* var. c*arotovora* y var *atroseptica, E. chrysanthemi, E. cypripedii y E. rapahontici.* Estas bacterias reblandecen discos de tubérculos de papa; no hidrolizan el almidón ni crecen en caldos con 10 % de NaCl; son oxidasas y ureasa-negativas y utilizan la arbutina y el gluconato; producen ácido del eritrol, adotinol y dulcitol. Son sensibles a la Kanamicina, neomicina, poliximicina, estreptomicina, cloramfenicol y tetraciclina, son catalasa-positiva; reduce los nitratos y fermentan la glucosa. Producen ácidos a partir de la glucosa, sacarosa, arabinosa, xilosa, glicerol, manitol, sorbitol, manosa, ribosa y celobiosa.

Agente Causal de la Pierna Negra de la Papa

Ubicación taxonómica

La posición taxonómica de esta bacteria de acuerdo a Goto (1994) se presenta en seguida:

Reino..... Procaryotae

División Gracilicutes

Clase...... Protobacteria

Familia..... Enterobacteriaceae

Género..... Erwinia, Pectobacterium

Especie..... carotovora var. atroseptica

Importancia económica

Calderoni (1978) cita, que las pudriciones blandas y húmedas son de amplia difusión mundial y causan perdidas importantes de tubérculos en los depósitos o montones de papa,

tanto en campo como en almacén. Cartin y Fucikovsky (1981) señalan que debe considerarse como las más importantes y señalan pérdidas hasta de 29 % en rendimientos. Aunque en el cultivo la incidencia normalmente no es superior al 2 %. French (1977) considera esta enfermedad de origen bacterial como una de las mas importantes en América Latina.

Quizás potencialmente las bacterias sean mas peligrosas por sus daños que los hongos, en 1981en los centros de producción de papa en la Republica Mexicana, se observó que las enfermedades causadas por bacterias mas comunes en México en el cultivo de papa son; Pierna negra de la papa, Pudrición anular, Marchitez bacteriana o vaquita, Pudrición blanda y húmeda de los tubérculos y Sarna común (Moneral, 2001).

Hospederos

El único hospedero importante es la papa aunque también se le ha señalado atacando especies como; *Delphinium*, remolacha forrajera, nabo, *Saintpaulia ionantha, Ficus elastica y Phaseolus vulgaris*, aunque se necesitan confirmar estos datos dada la dificultad de diferenciar a este patógeno de *E. c.* subsp. *carotovora*, cuya gama de hospederos es muy amplia (Campos 1977).

Distribución geográfica

Probablemente la bacteria se encuentra en todos los lugares en que se cultiva papa extensamente.

Etiología

Los agentes patógenos son bastoncillos con los extremos redondeados, sin capacidad de esporular, aproximadamente de $1.5 \times 0.7 \mu$. Son gram negativos y móviles, con un número de 1 a 6 flagelos perítricos. En cultivos viejos las bacterias pierden su movilidad. Las colonias sobre agar pectonado son filiformes, de color blanco grisáceo e iridiscentes, aspectos ligeramente húmedos y buríticas. Las distintas características bioquímicas y de cultivo han sido descritas por (Díaz, 1989).

Esta especie es pectolítica, fuertemente anaeróbico facultativo, que utiliza una amplia gama de fuentes de carbono. La diagnosis de la enfermedad que causa pie negro de la papa, depende principalmente de aislar a la bacteria de las plantas con síntomas típicos de la enfermedad (Smith *et al.*, 1992).

Síntomas

En condiciones templado-frescas las plantas a veces pueden morir antes o poco después de que emerjan, con lo que hay fallas en la plantación; sin embargo, los primeros síntomas de la enfermedad se observan en las plantas emergidas que con frecuencia aparecen achaparradas o duras, con un follaje verde pálido o amarillo. Las hojas sobre todo las superiores, son rígidas y erectas y sus márgenes se enrollan hacia adentro; el cuello, hasta unos 10 cm por encima y por debajo del nivel del suelo, esta ennegrecido o pardo oscuro y podrido, pero aun firme; durante los periodos secos esta podredumbre basal es parda mas clara, seca y a menudo escamosa.

En una planta pueden o no estar afectados todos los tallos, pero con frecuencia solo se muestra en uno o dos, y posteriormente se observan lesiones hundidas de color negro. Si los tallos afectados se cortan transversalmente unos 5cm sobre la raíz, normalmente se puede observar un cambio de coloración a pardo de los haces principales de tejido lignificado. El tubérculo usado para siembra casi siempre esta podrido. Al avanzar la estación las hojas de las plantas afectadas empardacen y la planta muere. En las plantas en que aparece la enfermedad tardíamente, cuando el cultivo ya ha cerrado, o durante rachas de tiempo húmedo, la podredumbre basal es más oscura, húmeda y blanda, y a veces pueden observarse externamente, mas arriba en los tallos estrías negruzcas estas plantas a menudo se marchitan y colapsan con rapidez (Smith *et al.*, 1992).

Epidemiología

Perombelon y Kelman (1980) mencionan que en las regiones templadas, donde el principal agente del pie negro es *E. c.* subsp. atroseptica, la mayoría de la papa que se siembra

esta contaminada por el patógeno, normalmente en las lenticelas en el momento de la plantación aunque también se encuentra en el tejido vascular y puede invadir los tallos a través de los estolones y los tubérculos hijos; la invasión del tallo también puede tener lugar por los tejidos corticales cuando la planta de siembra lleva lesiones. La enfermedad presente en los tallos depende de muchos factores, como el nivel de inoculo en la papa de siembra, el daño de esta, la temperatura del suelo y humedad la relación de estos factores con la incidencia es compleja, por lo que es difícil de predecir. En ataques graves prácticamente todos los tubérculos se pudren en el suelo; sin embargo, la enfermedad normalmente no avanza con tanta rapidez y los tubérculos pueden permanecer firmes durante una temporada para pudrirse posteriormente en almacén.

Estudios sobre la supervivencia indican que probablemente sobrevive en restos de las plantas de papa y en los tubérculos que rebrotan y sobreviven al invierno. Las bacterias pueden sobrevivir en la rizosferá de las malas hierbas huéspedes. Las vías de contaminación además del movimiento de la bacteria en el agua del suelo desde las papas de siembra a los tubérculos hijos y por la lluvia desde los tallos hasta los tubérculos en producción es común. El movimiento por insectos (principalmente dípteros) y desde pilas de tubérculos cosechados hasta cultivos esta bien documentado(Smith *et al.*, 1992).

Estrategias de control

Control cultural.- Como las cortadas, golpes y otros daños permiten la entrada de organismos causantes de podredumbre, los tubérculos deben manejarse para evitar que se golpeen, su almacenaje debe hacerse bajo condiciones favorables de temperatura y humedad para que cicatricen (subericen) los tejidos dañados. Eliminar todos los tubérculos que muestren podredumbre y almacenar las papas de semilla cortadas inmediatamente después del corte a una temperatura aproximada de 70 °C y un 80 % de humedad para favorecer la cicatrización adecuada de las superficies cortadas, ha proporcionado un control efectivo en algunos lugares (Díaz, 1989).

Según Brenchley (1979) menciona, que para su control se recomienda usar semilla certificada y evitar los excesos de humedad. Calderoni (1978) recomienda, evitar plantar papa de semilla proveniente de cultivos afectados por la enfermedad. Bovey (1984) reporta, que es preciso eliminar toda planta enferma durante la vegetación.

Control químico.- García (1984) menciona que cuando se usa tubérculo fraccionado para la siembra, se aconseja esperar el acorchado de la superficie de los trozos, desinfectándolos con PCNB, Captan o Thiram. Las herramientas usuales para fraccionar tubérculos, debe desinfectarse con formol al 5 % o con cloral. Calderoni (1978) reporta, el control químico con antibióticos a base de estreptomicina y oxitetraciclina. Para ello pueden tratarse los tubérculos y en forma complementaria las plantas se deben asperjar repetidas veces según la gravedad. La dosis a emplear según la infección varia entre 30 y 240 g/100 L de agua.

Características Del Género Pseudomonas

De acuerdo con Messiaen *et al.* (1995), las *Pseudomonas* no constituyen una entidad homogénea, se divide en fluorescentes y no fluorescentes, según produzcan o no un pigmento fluorescente bajo rayos ultravioleta en medio de king. En las no fluorescentes, se encuentra los parásitos de los *Allium* como; *Pseudomona . cepacia y P. gladioli* pv. *alliicola, pero* sobre todo destaca *P. solanacearum*, agente de las traqueobacteriosis de los plátanos y las solanáceas. Entre las fluorescentes sobresale la especie *P. syringae*, cuyos patovares provocan numerosas enfermedades específicas en las hortalizas como el pv. *lachrymans* en cucurbitáceas, *pisi, phaseoli, tomato*. También se pueden podemos encontrar especies menos especializadas que se comportan como agente de las podredumbres marginales de las hojas en tiempo cálido y húmedo como; *P. viridiflava, P. cichorii. P. marginalis*.

La clasificación taxonómica del género *Pseudomonas*, se ha estudiado por Pelleroni, 1984 citado por Smith *et al.*, 1992. quien señala que contiene patógenos de animales y plantas,

xxxiii

así como saprófitos, y se han dividido en cinco secciones. La mayor parte de los patógenos de

plantas están en la sección I, y la mayoría de ellos en la especie P. syringae

Son células monotrícas, aisladas en forma de bacilos rectos o curvados; son gram (-)

con dimensiones de 0.5 a 1 x 1.5 a 4 µ, se desplazan por medio de uno o varios flagelos

polares. No producen vaina ni endosporas de reposo, son quimiorganotróficas con

metabolismo respiratorio no fermentativo. Son anaerobias estrictas, excepto algunas que son

desnitrificantes. Excepcionalmente pueden reducir nitratos o usar el hidrógeno o el CO₂ como

fuente de energía, utilizando el acetato como nutriente.

La mayoría de las especies de este género no necesitan para desarrollarse de factores de

crecimiento, pero si de lactato, succinato y glucosa. Puede producir pigmentos solubles verdes,

azules y amarillos, y muchas especies acumulan gránulos de ácido poli-B-hidroxibutírico,

particularmente cuando crecen en un medio pobre en nitrógeno. Algunas producen

fluorescencia en el medio B - King. Contrariamente a Xanthomonas, la mayoría de las

especies de *Pseudomonas* no degradan almidón y son muy resistentes a los antibióticos.

Bacteriosis de la Lechuga.

Ubicación taxonómica

La posición taxonómica de esta bacteria de acuerdo a Goto (1994) se presenta en seguida:

Reino.....Procaryotae

División.....Gracilicutes

Clase.....Protobacteria

Orden Pseudomonadales

Familia......Pseudomonadaceae

Especie.....cichorii.

Importancia económica

Aunque en general no se dispone de estimas cuantitativas de las pérdidas causadas por la enfermedad, parece claro que en Japón se considera de importancia económica para la producción de lechuga al igual que en partes de Estados Unidos en la producción de lechuga, apio y crisantemo. En Europa, en general, no se considera una enfermedad principal pero dada su naturaleza, la amplia gama de huéspedes y la evidencia de que puede ser la causa primaria para ataques posteriores por bacterias causantes de podredumbres blandas, la han tomado muy en cuenta y probablemente las pérdidas no sean pequeñas; se han señalado en Italia ataques epidemiológicos a lechuga (Smith *et al.*, 1992).

Hospederos

P. cichorii, este patógeno provoca debilidad de muchas plantas herbáceas en las que causa lesiones necróticas de hojas y tallos, pardo oscuros a negras, y probablemente existe como un epifito migrante o residente. Su amplia gama de huéspedes incluye lechuga, endivia, perejil, apio, champiñón. Frijol común, especies de *Brassica*, geranio, crisantemo, gervera, dalia, café, tabaco, tomate, berenjena y girasol.

Distribución geográfica

Casi con certeza tiene una distribución mundial, tanto en cultivos protegidos como en aire libre.

Síntomas

Smith (1992) comenta que los síntomas varían, pero en lechuga normalmente empiezan como manchas hidrópicas pequeñas de color verde oscuro alrededor de los estomas, de los

pelos epidérmicos o de los hidatodos, en condiciones ambientales favorables de condensación de agua y humedad relativa elevada crecen rápidamente y coalescen formando lesiones grandes que se extienden son de aspecto húmedo y pardo oscuro. Si las condiciones ambientales se hacen secas normalmente cesa la extensión de las lesiones y pueden secarse y cambiar a una coloración mas clara. En muchos huéspedes los síntomas son similares a estos, pero en otros se desarrolla con un halo amarillo, estrecho alrededor de las lesiones.

La variación de la expresión de los síntomas incluye; el desarrollo en las coliflores de manchas pequeñas, incoloras, que empardasen rápidamente cubriendo toda la inflorescencia y que en condiciones húmedas asociada con *E. carotovora*, y a la destrucción de toda inflorescencia, en condiciones secas al establecimiento de *Alternaria brassicicola* (Coleno *et al.*, 1971 citado por Smith, 1992); en gerbera hay formación de anillos concéntricos en las lesiones foliares; se presenta seca de hojas en plántulas de café y defoliación de plantas adultas. Se observan manchas barnizadas, síntoma que aparece en lechuga de California con manchas pardo oscuro, brillantes, firmes, necróticas, de unos pocos mm de diámetro en las láminas y pecíolos de las hojas a las dos o tres mas externas del cogollo; en la lechuga estos síntomas se parecen a los causados por *P. marginalis* y *P. viridiflava*. Tsuchiva *et al.* (1979) han sugerido que estas tres bacterias deberían considerarse como la causa conjunta de la podredumbre bacteriana de la lechuga ya que puede invadir el tejido vascular.

Epidemiología

Ohata *et al.* (1982) reportó que el patógeno puede sobrevivir durante el invierno en hojas secas de lechugas enfermas o tejido enfermo enterrado y durante el verano, en suelo infectado por un mes. Puede aislarse de las hojas afectadas de malas hierbas en los campos de lechuga y de la rizósfera de este cultivo y malas hierbas. Existe evidencia de transmisión por semillas en lechugas arrepolladas, la planta es mas susceptible en estados tardíos del desarrollo, en las hojas, nervaduras y pecíolos medios que en las externas o tiernas, Puede infectar con facilidad a tejidos no heridos y el desarrollo de lesiones tiene lugar a 10 – 30 °C con óptimo de 25 °C (Shirata *et al.*, 1982).

Estrategias de control

Aunque las semillas de lechuga puede liberarse del patógeno por termoterapia con éxito. Dada la presencia general del patógeno en el medio ambiente del cultivo, no se espera que esta práctica pueda controlar la enfermedad por si misma. Se recomienda evitar las condiciones favorables a la infección y hacer rotaciones largas, lo que a menudo no es posible en cultivos hortícola de este tipo.

Uso Indiscriminado de los Plaguicidas

El control químico de plagas y enfermedades es uno de los métodos mas efectivos que posee el hombre para defenderse de estas, debido a que produce beneficios a corto plazo. Sin embargo, este método de lucha, aplicado indiscriminadamente o por su efecto acumulativo provoca diversos impactos tales como desbalance ecológico, contaminación ambiental, intoxicaciones y daños severos a la salud por citar algunos (Bernal y Armario, 2002).

En la agricultura moderna la aplicación excesiva de pesticidas comerciales ha aumentado considerablemente, y esto ha traído graves consecuencias en el mundo, se conocen alrededor de diez millones de sustancias químicas, de las cuales 70,000 son de uso corriente, incluyendo medicamentos y plaguicidas. Cada año ingresan al mercado entre 500 y 1,000 nuevas sustancias, generándose entre 300 y 400 toneladas de desechos peligrosos (Frank, 1996).

Consecuencias al medio ambiente.- La contaminación ambiental, que incluye la contaminación del manto freático, salinidad de suelos, mutaciones genéticas y del agua (Frak, 1996). 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.

Efecto sobre los enemigos naturales.-Debido a que los pesticidas se caracterizan por tener un amplio espectro, afecta a los enemigos naturales y los polinizadores, 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.

Efecto sobre organismos superiores.- Según datos de la organización mundial de la salud se estima que alrededor de 2 millones de personas se envenenan anualmente en el mundo y de estas mueren entre 30, 000 y 40,000, ocurriendo estas en los países en vías de desarrollo. Muchos plaguicidas, así como otros químicos orgánicos sintéticos, pueden imitar la acción de hormonas humanas y animales, perturbando los procesos endócrinos, lo cual puede resultar en malformaciones y cáncer.

Resistencia a plaguicidas.- 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).

Según Eckert (1988) existen reportes de resistencia a streptomomicina y al cobre por parte de las *Xanthomonas* en chile esto en los años 1962 y1983.

Alternativas para el futuro

Los plaguicidas biológicos y toda una nueva generación de plaguicidas, como los de origen botánico, que se incluyen en el manejo integrado de plagas ofrecen una salida alternativa de esta problemática actual a nivel mundial. Además de que se esta demostrando que estos métodos son capaces de forjar una agricultura ambientalmente sana, socialmente justa, y económicamente viable (Bernal y Armario, 2002).

Uso de Extractos Vegetales

Importancia de los extractos vegetales

Las plantas ofrecen una fuente excelente de productos naturales biológicamente activos, a través de los años, numerosas plantas han sido exploradas como fuentes de plaguicidas; no obstante, los productos naturales de plantas han sido rezagados en el uso a pesar del enorme potencial que pueden tener en la investigación moderna de agroquímicos. (Benner, 1993)

Dentro del combate de plagas y enfermedades de los cultivos, una de las alternativas que mas beneficios puede aportar en esta lucha, consiste en el uso de extractos de origen vegetal. 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. Además de que su obtención es de costos mas bajos que los derivados químicos en algunos casos (Segui, 1995).

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 desparecen con facilidad del medio ambiente aéreo y del suelo después de que son aplicados en el campo (Tanaka y Andómuro, 1993).

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. No obstante, hay pocos trabajos sobre el control de bacterias fitopatógenas con extractos de plantas. Las hojas parecen ser la fuente mas consistente de inhibidores, por lo cual muchos investigadores han evaluado a estas, sin embargo Ferenczy (1956) considera que las semillas 10 frutos de muchas У especies de plantas contienen compuestos antibacteriales antifúngicos У mas efectivos (Rice et al. citados por Segui, 1995).

Respuesta de Bacterias Fitopatógenas a Extractos Vegetales

Efecto sobre Xanthomonas

De acuerdo con Satish *et al.* (1999), estudiaron la actividad antibacteriana de extractos de plantas sobre el fitopatógeno *X. campestris* en diferentes patovares, los extractos acuosos de hojas de 30 plantas, evaluados *in vitro*, encontrando que 8 especies mostraron actividad antibacteriana basados en la zona de inhibición en un análisis de difusión, la actividad antibacteriana altamente significativa fue observada en los extractos acuoso de *Prosopis juliflora*, *Oxalis corniculata e Lawsonia inermis*. La susceptibilidad de diversos pathovares de *X. campestris* (*X. axonopidis* pv *malvacearum*, *X. axonopodis* pv phaseoli, *X. campestris* pv *vesicatoria*, indica que la actividad antibacteriana de los extractos fue comparable con la de los antibióticos, como streptomicina.

Chaturbhuj y Jayashree (2004). evaluaron la eficacia de 14 plantas contra X. oryzae pv orizae quienes observaron que la inhibición máxima fue en las concentraciones Azadirachta Datura metel У para indica concentraciones de 20 (8.6 mm) y del 15 %

Evaluaciones *in vitro* de la eficacia de extractos acuosos de seis plantas, en el control *X. campestris malvacearum* se encontró que el extracto *A. sativum* fue el mas efectivo (Shenge y Akpa, 2003).

Extractos de plantas medicinales sobre bacterias fitopatógenas mostraron que los extractos crudos de *Cassia alata* (hoja), *Cassia fistula* (hoja) y *Curcuma longa* (rizoma) evaluados contra *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *P. solanacearum* y *X. campestris* pv. *vesicatora* mostro que el crecimiento de las 3 bacterias fue inhibido totalmente por el extracto crudo de *C. longa* 30000 ppm, *C fistula y C alata* a 10000 ppm (Wongkaew *et al.*, 1997)

Leksomboon *et al.*(2001) determinaron el potencial de extractos acuosos en el control de *X. axonopodis* pv *citri*, encontrando una incidencia de 48 % en invernadero y mas baja en campo al rociar extractos de hojas de *Tamarindus indica*

Efectos sobre Erwinia

Gardan et al. (1978) reportan que extractos de plantas de Anjou, 13.5 % fueron activos contra 54 % de 26 aislantes bacterianos, y el 59 % de estos inhibieron el crecimiento en mas de un 90 %, 15 de las 80 familias de las plantas tenían por lo menos 1 representante activo. Entre los aislados bacterianos el 33 % fueron de *Erwinia*, el 19 % de *Corynebacterium*, 13 % de *Pseudomonas*, 3.7 % de *Agrobacterium*.

Zalewski y Sequeria (1973), indicaron que los extractos etanólicos de tubérculos, tallos y tejidos de hojas de *Solanum phureja* y *S. tuberosum*, inhibieron el crecimiento de la bacteria *P. solanacearum*, pero no mostraron efecto alguno sobre *E. atroseptica* y *E. carotovora*.

Guevara et al. (2000) evaluaron, el efecto bactericida in vitro de varios extractos de plantas contra bacterias patógenas del mango, girasol, papaya y plátano evaluaando 17

especies de diferentes familias, los efectos bactericidas mas significativos fueron para el género *Erwinia* se encontraron con el extracto de cilantro (*Eryngium foetidum*), yuquilla (*Ruellia tuberosa*) cundeamor (*Momordica chantia*); por otro lado al *el* extracto de mamón (*Melicocca* bijuga) presento efectos bactericidas sobre *Pseudomonas* sp. en plátano.

Mosch y Zeller (1989) evaluaron el efecto de los extractos de *Mahonia aquifolium*, *Berberis vulgaris*, *Rhus typhina* y ajo contra *E. amylovora* en el hospedero *Cotoneaster salicifolius* var. *floccosus*, los extractos vegetales redujeron significativamente los niveles de infección obteniendo entre 25,6 % y 53,2 % de control, los extractos más efectivos fueron con los extractos de *M. aquifolium* y *B. vulgaris*.

Posteriormente Mosch *et al.* (1990) obtuvieron resultados comparables a los que observaron cuando usaron estreptomicina a 17 ppm, en condiciones de campo, los extractos de *B. vulgaris*, *R. typhina*, *M. aquifolium* y *A. sativum*, aplicados como profilácticos a *C. salicifolius* var. *floccosus*, lograron 53% de control. Zaccheo (1990) informó que extractos, de meristemas apicales de pera al 1% tuvieron efectos bacteriostáticos *in vitro* contra *E. amylovora*.

El crecimiento de *E. carotovora* subsp carotovora y atroseptica, fueron inhibidos por extractos hidrosolubles de hojas de maíz, semillas de soya, follaje de algodón y semillas de anís, en las concentraciones mas alta de los extractos (78, 32, 80, y 67 mg/mL respectivamente) (Ouf *et al.*, 1991).

Analizaron la influencia de extractos etánolicos de plantas en el crecimiento de *E. amylovora* de 30 especies de hierbas y leñosas encontrando extractos activos en 23 especies; en 13 de ellos las sustancias activas se encontraron por primera vez, el mayor efecto fue registrado por *Aloe arborescens, J. regia, R. tiphina, Salvia officinaalis y Satureja hortensisi* (Krupinski et al., 2001).

Efecto sobre *Pseudomonas*

>

Lipa y Jarosz (1989) causados *A. sativum* pulpa, determinaron una inhibición en el crecimiento de *P. syringae* pv. *lachrymans*. A su vez Alstroem (1992) señala, que los extractos de café y té poseen actividad antibacteriana para las razas 1 y 2 de *P. syringae* pv. *pisi* (Sackett), y para la raza 1 de *P syringae* pv. *phaseolicola*.

Segui (1995) evaluó extractos de agujas de pino tolerantes al hongo Lophordium pinastri sobre P. solanacearum en repollo y col de Brucelas, encontrando que el filtrado tóxico al 100 % ofrece una mayor protección contra la bacteria en ambos cultivos,

La resina de gobernadora en su fracción etanolica, manifestó *in vitro* una acción selectiva contra bacterias, ya que en especies de *Erwinia* no presenta efecto alguno; en cambio contra *P. solanacearum* presentó un excelente efecto a 250 ppm, esto fue comparativamente igual al testigo con el antibiótico (Velásquez, 1983).

Gonzalez (1989) determino la persistencia de la actividad bactericida de la resina de *Larrea tridentata* sobre *Pseudomonas solanacearum* en laboratorio e invernadero, encontrando que presentaba acción bactericida por un periodo de 60 dias a partir de su extracción, con iguales resultados al Agri-mycin 100. considera que la resina de gobernadora presenta propiedades sistémicas para controlar la enfermedad en pruebas de invernadero.

Características del Hojasén

Clasificación taxonómica de F. cernua D.C

Vines (1974) ubica a la planta de hojasén de la siguiente forma:

Reino Metophyto

Subreino Spermatophyto

Clase Angiospermae

Subclase Dicotyledonae

Orden Companulatae

Familia

Asteraceae

Género

Flourencia

Especie

cernua

D.C.

Descripción botánica

F. cernua es un arbusto muy ramificado hasta 2 m de altura que exuda una sustancia resinosa con olor a alquitrán (Correll y Johnston, 1970). La planta (figura 1) tiene ramas delgadas, resinosas, color café claro a gris (Vines, 1960) con hojas alternas, compuestas de dos foliolos, elípticas a oblongas de 17-25 mm de largo y 6.5-11.5 mm de ancho, agudas a ambos lados, haz verde oscuro, y a veces resinoso, envés más pálido y pecíolo de 1-2.5 mm (Correll y Johnston, 1970; Vines 1960). Las flores son cabezuelas en corimbos o panículas y presenta de 12 a 20 flores por cabezuela (Vines, 1960). El fruto es un aquenio muy velloso de 6 mm de largo y 2 mm de ancho, lateralmente comprimido, de 2 a 4 aristas desiguales y ciliadas de 2-3 mm de largo, casi obscurecidas por los largos del aquenio (Benson y Darrow, 1981; Correll y Johnston, 1970; Vines, 1960). Además Pérez, (1964) citado por Lopez (1989) menciona, el sistema radical es pivotante de color café oscuro, de consistencia leñosa y poco flexible.

Reproducción

Sexual. El hojasén se reproduce por semilla, no posee zonas de yemas bajo la superficie del suelo (Herbel y Gould, 1980). Asexual. El hojasén resiste la remoción de su parte aérea mediante el rebrote a partir de la corona del tallo, reporta que el hojasén solo puede presentar reproducción vegetativa a partir de secciones del tallo, establece que esta especie es capaz de reproducirse a través del sistema

radicular. La aplicación de tratamientos tendientes a destruir a esta especie, provoca la activación de yemas vegetativas que posee en su parte basal en la región del cuello de la planta, presenta reproducción vegetativa a partir de secciones del tallo Díaz (1985).

Importancia

El hojasén es una planta del desierto que es usada en la agricultura para cercas vivas y protección de cultivos, ocupada en el área rural para la construcción de techos, paredes, en medicina tradicional contra la indigestión y problemas gastrointestinales; muchas veces es considerada una maleza por los productores de la región sin darse cuenta de su potencial en el uso de control de enfermedades, plagas y malezas agrícolas, lo que puede excluir poco a poco el uso de agroquímicos esto puede reducir los efectos adversos causados por el uso de compuestos sintéticos antes mencionados.

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 dan en Estados Unidos de Norteamérica son: tarbush, hojase, american tarbush, black brush, barnish-brush y hojasén (Benson y Darrow, 1981; Correll y Johnston, 1970; Gay et al., 1970; Vines, 1960). En México se le conoce como hojasén, arbusto de alquitrán y escobilla negra (Arredondo, 1981).

Distribución del género.

Blake (1913), describe 23 especies de este género, 9 mexicanas y 14 sudamericana; 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), menciona que el género está compuesto por 29 especies.

Distribución del hojasén

Junto con la gobernadora (Larrea tridentata) el hojasén son arbustos nativo perennes, ecológicamente dominantes y las ampliamente distribuidas en zonas semiáridas desiertos Chihuahuense y Sonorense del norte de México; 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 % (500,000 km² de la República Mexicana esta cubierta con estos arbustos del semidesierto), los cuales desarrollado diversas adaptaciones para tolerar las sequías y las altas temperaturas.

Se encuentra 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, Durango, San Luis Potosí, Zacatecas y México, D.F. (Vines, 1960). Silva (1980) la reportan para el sur de Nuevo León. Es un componente de la Sierra Madre Oriental y del Bolsón de Mapimí. Está región comprende parte del desierto Chihuahuense y la vegetación dominante son los matorrales micrófilos y rosetófilo.

En los Estados Unidos de Norteamérica 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). Si embargo, Arredondo, (1981); González (1975); Silva, (1980) mencionan que

la altitud predominante son los 1900 msnm y pendientes del 1 al 6 %.

Efectos contra organismos

Molina et al. (2006) evaluaron la actividad bactericida de extractos orgánicos contra la enfermedad de la tuberculosis de *Mycobacterium*. Las especies de plantas utilizadas fueron *Artemisia ludoviciana*, *Chenopodium ambrosioides*, *Marrubium vulgare*, *Mentha spicata*, y *Flourensia cernua*. Estas especies se utiliza en México para tratar desórdenes respiratorios. 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 *M. tuberculosis* encontrando que *F. cernua* fue extraordinariamente activa, sus extractos de hexano y acetona no sólo inhibieron el crecimiento si no que mataron *M. tuberculosis*.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Area experimental

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Fitoquímica del Departamento de Fitomejoramiento y de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, de esta Universidad, ubicada al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, cuya altura es de 1743 msnm y cuyas coordenadas geográficas oscilan entre 25° 22' y 25° 21' altitud norte 101° 01' 7 101° 03' longitud oeste, en el periodo comprendido de julio del 2005 a marzo del 2006.

La investigación se trabajó en colaboración con el laboratorio de bacteriología del Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios (CISEF), localizado en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México.

Colecta del Material Vegetal

La planta de hojasén se encuentra distribuida en la región del desierto Chihuahuense donde generalmente es abundante; se presenta en Coahuila, donde se puede localizar al sur de la Ciudad de Saltillo en el Ejido de Guadalupe Victoria por la carretera 54 a Zacatecas, en este sitio se presenta un número abundante de plantas, lugar en el que se efectuó la colecta.

La colecta del material vegetal de *F. cernua* se realizó en las fechas; 1 Marzo, 3 agosto y 30 de septiembre del 2005, se colectaron ramas terminales de entre 10 a 12 cm de longitud de plantas que presentaron un mayor número de hojas, las que se depositaron en bolsas de polietileno de color negro y se transportaron al laboratorio de fitoquímica donde se guardaron en el cuarto frío a 4 °C para evitar la descomposición de estas; posteriormente se separaron las hojas de los tallos y se colocaron en un congelador entre –18 °C y –20 °C para conservarlas mientras se obtenían los extractos

Obtención de Extractos

La extracción se llevó a cabo de manera secuenciada con disolventes de diferente polaridad; de hexano, éter y etanol, a partir de las hojas frescas de F. cernua. La extracción de la mezcla metanol:cloroformo а una relación de (1:1), realizada con hojas nuevas; para ambos casos se tomaron 460 q de hojas, que fueron colocadas en garrafones de vidrio de color agregó 2.5 ámbar a las cuales se les L del disolvente respectivo; se agitaron a 150 rpm en un agitador mecánico a baño maría a temperatura ambiente durante 22 h, ensequida se filtró la extracción en papel Whatman número 1, posteriormente se evaporó el solvente del filtrado en un rotavapor Buchii, donde la temperatura de ebullición para los solventes fue; hexano 60 ± 2 °C, eter 38 ± 2 °C, etanol 66 ± 2 °C, y metanol:cloroformo 55 ± 2 °C) hasta obtener finalmente resina a la cual se le tomó el rendimiento de la misma de acuerdo al solvente.

Rendimiento de los Extractos

El rendimiento de los extractos obtenidos se determinó, estableciendo el peso del matraz donde se recuperaban los mismos. Para conocer el rendimiento fue necesario realizar operaciones matemáticas que nos permitieron determinar la cantidad de extracto de acuerdo a la cantidad de hojas y solventes utilizados, aplicando la fórmula siguiente:

Rendimiento % = (Cantidad de resina / Cantidad de hojas x 100)

Transferencia de las Bacterias.

Las cepas bacterianas fitopatógenas que se utilizaron en la presente investigación fueron proporcionadas por el laboratorio de bacteriología del CISEF el cual previamente realizó las pruebas pertinentes y correspondientes a su caracterización e identificación. Las bacterias proporcionadas fueron; *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli, Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* y *Pseudomona cichorii*.

Se realizaron transferencias en medios de cultivo estériles de K-B (B-King), por medio de estrías seriadas, las que se realizaron de tal manera que se formaran colonias aisladas, la incubación fue por 24 h a una temperatura de 28 °C para los casos de *E. carotovora* pv. *atroseptica* y *P. cichorii*. Para *X. campestris* pv. *phaseoli* fue de 72 h a la misma temperatura. Las colonias bacterianas puras de cada especie se manipularon con la técnica de diluciones con el fin de determinar la concentración que permitiera determinar el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) para ser contadas con facilidad, estas fueron sembradas por dispersión e incubadas por el mismo periodo y temperatura.

Realización de los Bioensayos

Una vez obtenidos los extractos a utilizar, se establecieron los bioensayos para determinar el efecto sobre las tres especies de bacterias en el laboratorio de Bacteriología del CISEF, evaluando las siguientes concentraciones: 500, 1,000, 2,000 y 4,000 ppm, para las tres especies de bacterias, utilizando para ello la técnica del medio envenenado en cajas Petri, utilizando el medio de cultivo K-B. Previo al vaciado a las cajas se le agregó el extracto a la concentración correspondiente, los que fueron diluidos en 5 ml. del solvente con el que se obtuvo cada extracto, esto para la concentración mayor reduciéndose a la mitad en las concentraciones subsecuentes de los tratamientos. La distribución de las concentraciones se realizó del tal manera que el medio fuera lo mas homogéneo con el extracto. Este procedimiento se realizó hasta tener todos los tratamientos preparados. Los bioensayos se conformaron por 6 tratamientos con 4 repeticiones involucrando un testigo absoluto con solo K-B y un testigo convencional con oxitretraciclina (Fungimicin 5 %) a las dosis comerciales

inferiores del producto (200g/100L) lo que equivalió a colocar 0.8 g/L al medio de cultivo, al que fue adicionado de la misma manera previo al vaciado del medio a las cajas Petri.

Se prepararon las diluciones con las bacterias las que fueron sembradas por dispersión; para *X. campestris* pv. *phaseoli* 10 ⁻⁴por 72 h, *E. carotovora* pv. *atroseptica* y *P. cichorii* a 10^{-3.5} por 24 h a una temperatura de 28 °C para las tres especies, en el medio ya sólido con el extracto respectivo a las concentraciones antes dichas.

En el cuadro 1 se observa el arreglo de los tratamientos con cuatro repeticiones para los cuatro extractos aplicados en los bioensayos sobre las especies de bacterias a evaluar y las concentraciones de las resinas de los extractos que se aplicaron sobre las mismas.

Cuadro 1. Arreglo de los tratamientos de extractos de *Flourensia. cernua* D.C. Para cada especie de bacteria a evaluar, a diferentes concentraciones.

Extractos Aplicados A.	Concentraciones (ppm) B
Testigo.	0
Oxitetraciclina	48
Hexano	500
Hexano	1,000
Hexano	2,000
Hexano	4,000
Testigo.	0
Oxitetraciclina	48
Eter	500
Eter	1,000
Eter	2,000
Eter	4,000
Testigo.	0
Oxitetraciclina	48
Etanol	500
Etanol	1,000
Etanol	2,000
Etanol	4,000
Testigo.	0
Oxitetraciclina.	48
Metanol-Cloroformo	500
Metanol-Cloroformo	1,000
Metanol-Cloroformo	2,000
Metanol-Cloroformo	4,000

^{*}Dosis inferior comercial (0.8g/L)

Toma de datos

Para el desarrollo de esta investigación se cuantificó el número de colonias con ayuda de un lector de colonias una vez transcurrido el periodo de incubación de acuerdo a la bacteria

en estudio, con estos datos se estimó el porcentaje de inhibición tomando el número de UFC en el testigo como el 100 % mediante la fórmula siguiente:

% Inhibición Colonial = 100 – (Crecimiento Colonial del Tratamiento x 100/ Crecimiento Colonial Testigo).

Método de análisis

Para el análisis estadístico de la presente investigación se utilizó un diseño experimental bifactorial completamente al azar, con dos variables de estudio A x B: donde A fue el efecto de los extractos y B representa el efecto de las concentraciones. Los tratamientos se distribuyeron al azar en la incubadora. Los datos se analizaron estadísticamente por el programa estadístico del SAS. Además realizaron las comparaciones de medias de los tratamientos mediante la prueba de Tukey (P = 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el siguiente apartado se presentan los resultados obtenidos de las evaluaciones de los extractos de *F. cernua* con diferentes solventes, con respecto a la inhibición colonial de las bacterias; *X. campestris* pv. *phaseoli*, *E. carotovora* pv. *atroseptica* y *P. cichorii*.

Las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC) contadas en los bioensayos se presentan en el apéndice para cada una de las bacterias en estudio, los que fueron transformados en porcentajes de inhibición para los dos factores en estudio en base al testigo absoluto, esto para facilitar su interpretación lo que se representan en las figuras de este apartado.

Rendimiento promedio de la extracción de las resinas

En el cuadro 2 se presenta el rendimiento promedio obtenido de las resinas extraídasde las hojas de *F. cernua* en las fechas mencionadas con cada uno de los disolventes utilizados. La mayor concentración de resina fue para el extracto metanol:cloroformo con 8.18 % u la menor se observo con hexano con un 2.14 %; aunque, si se considera la suma total de los extractos de la extracción secuenciada esta es mayor 11.10 %

Cuadro 2. Rendimiento promedio de los extractos de *Flourensia cernua* D. C. expresado en porcentaje.

Solventes	Resina %
Extracción Secuenciada	
Hexano	2.14
Eter	5.83
Etanol	3.18
Extracción Mezcla	
Metanol – Cloroformo (1:1)	8.18

Determinación de las diluciones

En general las diluciones permitieron un crecimiento colonial promedio de 565 UFC/mL para *X. campestris* pv. *phaseoli* en la dilucion10⁻⁴, en el caso de *E. carotovora* pv

atroseptica la dilución de $10^{-3..5}$ presentó un promedio de 178 y 67 UFC/mL dado que se evaluaron 2 extractos en fecha separada. Con respecto a *P. cichorii* la dilución de $10^{-3.5}$ da un crecimiento colonial promedio de 57 UFC/mL

Efecto de Extractos de Flourensia cernua D.C Sobre la Inhibición de Bacterias

Xanthomonas campestris pv. phaseoli

Efecto de los extractos.- El efecto de inhibición promedio sobre *X. campestris* pv. phaseoli de los cuatro extractos aplicados en las diversas concentraciones evaluadas, se presenta en la figura 1. En ella se exhibe que existe diferencia estadística para el extracto hexánico el cual manifestó una inhibición superior a los demás extractos evaluados; la inhibición de las UFC de esta bacteria mostró un porcentaje de 61.51 %, seguido del extracto etéreo que presenta diferencia estadística con un porcentaje del 16. 98 % de inhibición, lo anterior en comparación con el testigo absoluto y el convencional. La prueba de medias indica que los extractos etanólico y la mezcla metanol:cloroformo (1:1) presentan diferencia significativa con el resto de los tratamientos, por lo consiguiente expresan un efecto considerablemente menor con los porcentajes de 4.05 y 4.36 % de inhibición

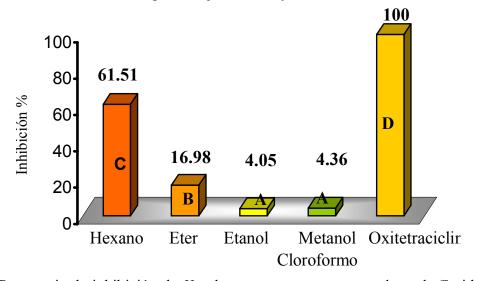


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye por efecto de extractos de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de concentraciones.- El efecto de las concentraciones de extractos de *F. cernua* se muestra en la figura 2 en ella se observa que la concentración a 4000 ppm de los cuatro extractos inhiben en promedio el 40.17 % de UFC/mL de *X. campestris* pv. *phaseoli*, a

E

diferencia de la concentración de 500 ppm que solo inhibió un 9.91 %, en comparación al testigo absoluto, la prueba de medias por tukey (P=05) indica que a mayor concentración mayor es el efecto bactericida, a demás de que existe diferencia significativa entre las concentraciones intermedias de 1000 y 2000 ppm, las cuales muestran una menor eficiencia que la concentración mayor. El testigo convencional oxitetraciclina fue el tratamiento que manifestó un control del 100 % esta bacteria

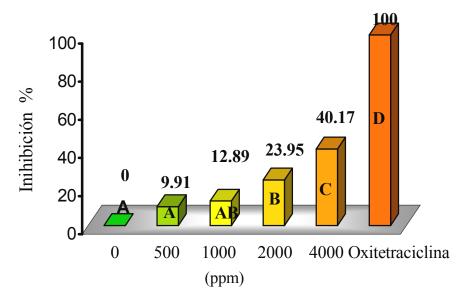


Figura 2. Porcentaje de inhibición de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye por efecto de concentraciones de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de la interacción de los extractos y las concentraciones.

Los resultados desglosados por tratamiento de los cuatro extractos aplicados sobre *X. campestris* pv. *phaseoli* se muestran en el cuadro 3, en el cual se representa el comportamiento de los diferentes extractos con las concentraciones en estudio, donde se aprecia que el mejor extracto en la inhibición de UFC/mL fue el hexánico el que mostró tener una eficiencia del 82.51 % a la concentración 4000 ppm, seguido del extracto etéreo con un 64 %, por último el extracto etanólico que manifiesta tener el menor efecto de inhibición con sólo un 14.73 % a la misma concentración. Es de enfatizar que la concertación de 2000 ppm del extracto hexánico también manifiesta un buen efecto de inhibición con 74.77 %

Se deduce que en cualquiera de los extractos en estudio a mayor concentración mayor efecto inhibición sobre la especie de bacteria en estudio, exceptuando el extracto metanol-cloroformo, en el cual su única inhibición fue en la concentración 2000 ppm con un 17.46 % superando a la de 4000 ppm en donde la inhibición fue nula, este efecto se considera errático y puede ser debido mas a efecto de manejo que a propiedades del extracto.

Cuadro 3. Interacción de extractos de *Flourensia cernua* D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de UFC/mL de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye a 72 de incubación.

Extractos	Concentracione	es % Inhibición	Tuke	y (P=0.05)
Factor A	Factor B	UFC/mL. *	Extracto	Concentración
Hexano	500	37.23		a
Hexano	1000	51.55	С	ab
Hexano	2000	74.77	C	b
Hexano	4000	82.51		c
Eter	500	2.40		a
Eter	1000	0.00	В	a
Eter	2000	2.08	Б	a
Eter	4000	63.44		b
Etanol	500	0.00		a
Etanol	1000	0.00	A	a
Etanol	2000	1.47	A	a
Etanol	4000	14.73		b
Metanol:Cloroformo	500	0.00		a
Metanol:Cloroformo	2000	17.46	A	b
Metanol:Cloroformo	4000	0.00		a

^{*} Presenta datos negativos = 0 % inhibición

Erwinia carotovora pv. atroseptica

Efecto de los extractos.- El efecto de inhibición promedio sobre *E. carotovora* pv *atroseptica* de los cuatro extractos aplicados de las diversas concentraciones evaluadas, se presenta en la figura 5, en ella se muestra que el efecto de inhibición de las UFC/mL que ejercen los extractos sobre la bacteria, que es muy limitado. La prueba de medias por tukey (P=05) indica que no existe diferencia significativa entre los extractos exceptuando al extracto etanólico que es el que expresan un efecto mayor con solo un 8.40 % de inhibición comparándolos con los demás, mostrando ser el que tiene mayor efecto sobre la bacteria pero no es representativo. El resto de los extractos manifiestan una inhibición similar que varia del 4.56 a 5.43 %. Esta bacteria por lo tanto resulta ser poco sensible al efecto de los diversos extractos del hojasen.

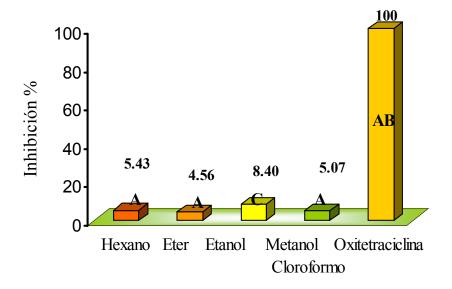


Figura 3. Porcentaje de inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye por efecto de extractos de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de las concentraciones.-Como se aprecia en la figura 6, el efecto de las concentraciones de *F. cernua* evaluados sobre *E. carotovora* pv. *atroseptica* no expresa fuertes porcentajes de inhibición a las concentraciones estudiadas. Como ya se citó, la

evaluación se realizó en dos fechas. La comparación de medias por Tukey (P=0.05) para las dos fechas indica que hay diferencia estadística para los tratamientos a 4000 ppm con el 10.12 % y a 500 ppm con 5.38 % de inhibición, este debiéndose probablemente al manejo del organismo y para el testigo convencional el cual presenta el mejor efecto con el 100 % de inhibición; la prueba expresa que no existe diferencia significativa para las otras concentraciones en estudio, las que manifiestan una inhibición muy limitada.

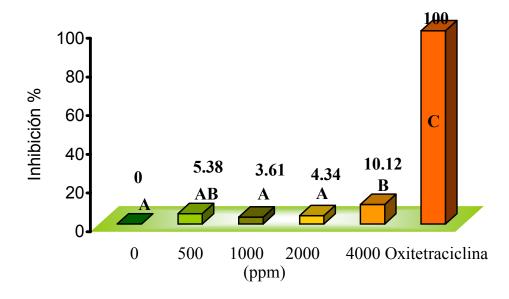


Figura 4. Porcentaje de inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye a diferentes concentraciones de extractos de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de la interacción de los extractos y las concentraciones.

Los resultados desglosados por tratamiento de los cuatro extractos aplicados sobre *E. carotovora* pv. *atroseptica* se muestran en el cuadro 4 en el cual se presenta el comportamiento de los diferentes extractos con las concentraciones en estudio, donde se aprecia que no hay efecto de inhibición marcado sobre esta bacteria en ninguno de los extractos evaluados, exceptuando el hexánico con una limitada inhibición de UFC/mL del 21.73 %, pero mostrando efectos nulos o pobres en el resto de las concentraciones. Como se puede apreciar el efecto de inhibición que ejercen los extractos etéreo, etánolicos y la mezcla

metanol:cloroformo es un muy limitado, por lo que se determinó que no presentan acción alguna en la inhibición sobre esta bacteria en todas las concentraciones en estudio.

Cuadro 4. Interacción de extractos de *Flourensia cernua* D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de las UFC/mL de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye a 24 h de incubación.

Extractos	Concentracion	es % Inhibición	Tuke	ey (P=0.05)
Factor A **	Factor B	UFC/mL. *	Extracto	Concentración
Hexano	500	0.00 *		a
Hexano	1000	0.00	A	a
Hexano	2000	0.00	Λ	a
Hexano	4000	21.73		b
Metanol:Cloroformo	500	5.93		c
Metanol:Cloroformo	1000	3.56	A	a
Metanol:Cloroformo	2000	3.86	Α	a
Metanol:Cloroformo	4000	4.90		b
Eter	500	11.01		c
Eter	1000	5.29	A	b
Eter	2000	0.00		a
Eter	4000	3.96		ab
Etanol	500	4.58		a
Etanol	1000	5.60	C	ab
Etanol	2000	13.49		c
Etanol	4000	9.92		b

^{*} Presenta datos negativos = 0 % inhibición

Pseudomonas cichorii

^{**}Análisis separados para los disolventes hexano, metanol : cloroformo y eter, etanol.

Efecto de los extractos.- El efecto de inhibición promedio de los cuatro extractos aplicados sobre *P. cichorii* de las diversas concentraciones evaluadas, se presenta en la figura 1. En ella se aprecia que el extracto hexánico manifestó una inhibición superior a los demás extractos evaluados, siendo esta de 39.51 % de inhibición de las UFC de esta bacteria mostrando ser el que mayor efecto de inhibición presenta sobre *P. cichorii*, seguido del extracto etánolico con un porcentaje del 33.70 % manifestando un efecto ligeramente menor efecto de inhibición, lo anterior en comparación con el testigo absoluto y al convencional. El extracto etéreo exhibe un efecto menor a los mencionados con anterioridad, con un 19.42 %, en el caso de la mezcla metanol:cloroformo (1:1), expresan un efecto prácticamente nulo. La prueba de comparación de medias por Tukey (P=0.05) nos presenta que existe diferencia significativa entre los extractos y el testigo convencional con los porcentajes de inhibición antes mencionados.

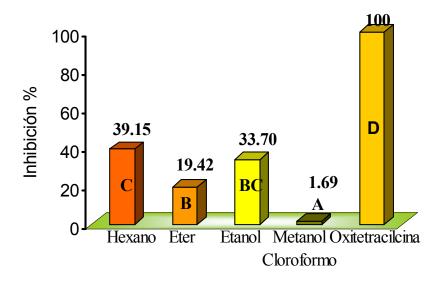


Figura 5. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp por efecto de extractos de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de concentraciones.- En la figura 4. se puede apreciar el efecto de las concentraciones de los cuatro extractos evaluados, en la que se observa que *P. cichorii* fue inhibida con mayor intensidad a la concentración mayor de los extractos en estudio, la cual fue

de 4000 ppm con una inhibición de 45.90 %, demostrando un efecto de inhibición superior al resto de las concentraciones, la prueba de tukey (P = 0.05) expresa que existe diferencia significativa entre las concentraciones, teniendo que a mayor concentración mayor el efecto de inhibición.

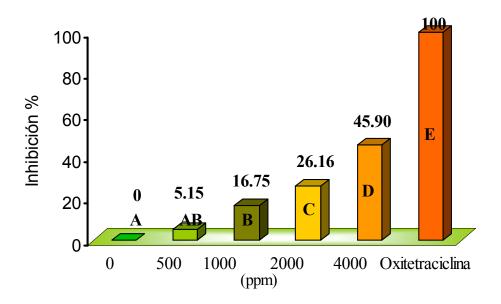


Figura 6. Porcentaje de inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp por efecto de las concentraciones de extractos de hojas de *Flourensia cernua* D.C.

Efecto de la interacción de los extractos y las concentraciones.

Los resultados desglosados por tratamiento de los cuatro extractos aplicados sobre *P. cichorii* se muestran en el cuadro 5, en el cual se presenta el comportamiento de los diferentes extractos con las concentraciones en estudio, donde se aprecia que el mejor extracto en la inhibición de UFC/mL fue nuevamente el hexánico el cual mostró tener una eficiencia del 83.96 % a la concentración 4000 ppm, seguidos de los extractos etanólico y etéreo que manifiestan tener un efecto similar entre ellos a la misma concentración de 4000 ppm con un porcentaje de 52.17 % y 47.48 % de inhibición respectivamente. Por último tenemos que el extracto de la mezcla metanol:cloroformo es el que no presenta inhibición alguna en todas sus concentraciones exceptuando la de 1000 ppm con un errático 6 % de inhibición debiéndose este al posible manejo del organismo. Es de enfatizar que la concentración de 2000 ppm de los

extracto hexánico y etanólico también manifiesta un notorio efecto de inhibición menor con un 44. 34 y 43.04 % respectivamente.

Cuadro 5. Interacción de extractos de *Flourensia cernua* D.C. y sus concentraciones en el porcentaje de inhibición de las UFC/mL de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. a 24 h de incubación.

Extractos	Concentraciones	% Inhibición	Tuke	ey (P=0.05)
Factor A	Factor B	UFC/mL. *		Concentración
Hexano	500	1.89		a
Hexano	1000	26.41	C	ab
Hexano	2000	44.34	C	b
Hexano	4000	83.96		c
Eter	500	0.00		a
Eter	1000	12.95	A	ab
Eter	2000	17.27	A	b
Eter	4000	47.48		c
Etanol	500	18.70		a
Etanol	1000	20.87	٨	ab
Etanol	2000	43.04	43.04 A	
Etanol	4000	52.17		c
Metanol:Cloroformo	500	0.00		a
Metanol:Cloroformo	1000	6.77	A	b
Metanol:Cloroformo	2000	0.00	A	a
Metanol:Cloroformo	4000	0.00		a

^{*} Presenta datos negativos = 0 % inhibición.

Extractos.- Los datos de los porcentajes de inhibición de las UFC/mL de las tres especies de bacterias evaluadas con los cuatro extractos en estudio, se presentan en el cuadro 6 donde se aprecia que los porcentajes de inhibición de los extractos sobre las tres bacterias en estudio, indican que el mejor efecto de inhibición se manifiesta sobre *X. campestris pv. phaseoli* con el hexánico y el etéreo con una inhibición del 61.50 % y 16.98 % respectivamente. Es de enfatizar que aunque no se tienen estudios del efecto de extractos *F. cernua* en bacterias fitopatogenas Molina *et al.* (2006) reportan una actividad bactericida sobre *Mycobacterium. tuberculosis,* lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio con *X. campestris pv. phaseoli* y *P. cichorri.*

Los extractos mencionados anteriormente nuevamente exhiben un efecto sobre la bacteria *P. cichorii* aunque es menor esta inhibición con un 39.15 y 19.42 % respectivamente, y el etanolico con 33.7%. Por otro lado la bacteria *E. carotovora* pv. *atroseptica* manifiesta limitada sensibilidad a los efectos de los extractos evaluados, el etanólico presenta la mejor acción sobre la especie con un limitado 8.40 % de inhibición de las UFC/mL de esta bacteria. En cuanto a la mezcla metanol-cloroformo tenemos que el efecto es prácticamente nulo sobre las tres especies de bacterias evaluadas siendo este por ende el que menor eficiencia presenta.

Cuadro 6. Concentración de porcentajes de inhibición de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) del factor A (extractos) para las tres especies de bacterias evaluadas.

-	% Inhibicion UFC/ml.					
Extractos	Xanthomonas	Erwinia	Pseudomonas			
	campestris pv. phaseoli.	carotovora pv. atroseptica	Cichorii			
Hexano	61.51	5.43	39.15			
Eter	16.98	4.56	19.42			
Etanol	4.05	8.40	33.7			
Metanol:Cloroformo	4.36	5.07	1.69			

Concentraciones.- En el cuadro 7 se presentan los porcentajes de inhibición de UFC de las especies de bacterias por efecto de las concentraciones de los cuatro extractos

evaluados, al hacer una comparación de la eficiencia de estos, se tiene que a mayor concentración es mayor el efecto de los mismo en comparación con el testigo absoluto. En caso del testigo convencional inhibió el 100 % de control de las UFC en las tres bacterias. Las concentraciones de 4000 ppm manifiestan tener la mayor acción sobre las especies de *X. campestris* pv. *phaseoli* y *P. cichorii*, en cambio a 2000ppm se reduce alrededor del 40% en estas dos especies. Para *E. carotovora* pv. *atroseptica* se presenta una inhibición limitada en todas las concentraciones evaluadas de los extractos lo que concuerda con el cuadro 6 en donde se muestra que los extractos tiene efecto limitado sobre esta bacteria.

Cuadro 7. Concentración de porcentajes de inhibición de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL) del factor B (concentración) para las tres especies de bacterias evaluadas.

		(UFC/mL)	
	Xanthomonas	Erwinia	Pseudomonas
Concentración	Campestris pv. phaseoli.	carotovora pv. atroseptica	cichorii
Testigo	0	0	0
Oxitetraciclina 48ppm	100	100	100
500 ppm	9.91	5.38	5.15
1000 ppm	12.89	3.61	16.75
2000 ppm	23.95	4.34	26.16
4000 ppm	40.17	10.12	45.9

A la fecha son escaso los estudios de extractos naturales sobre bacterias por lo que los resultados de este trabajo abren las posibilidades para continuar es esta línea de investigación, ya sea incrementando las concentraciones para tener un mayor efecto o buscar la posibilidad de realizar una mezcla de las extracciones que manifiestan un mejor efecto de inhibición del crecimiento colonial, no solo para las bacterias estudiadas si no para otras bacterias fitopatógenas de importancia económica.

CONCLUSIONES

Los extractos de *F. cernua*, hexánicos, etéreos y etanólicos tienen un efecto de inhibición variable de las UFC sobre las tres bacterias en estudio.

Para el caso de las *X. campestri* pv. *phaseoli* el extracto que manifestó el mayor efecto de inhibición de las UFC fue el hexánico a 4000 y 2000 ppm con 82.51 y 74. 77 % y el extracto etéreo con 63.44 % a 4000 ppm.

Para el caso de las *E. caratovora* pv *atroseptica* no presentó sensibilidad en los cuatro extractos aplicados en sus diferentes concentraciones, aunque en el hexánico a 4000 ppm alcanza un 21.73 %.

Para el caso de las *P. chicorii* el mas eficiente fue el extracto hexánico con 83.96 %, etéreo 47.48 % y etanólico con un 52.17 a la concentración de 4000 ppm.

La oxitetraciclina a 48 ppm inhibió el 100 % de las UFC de las tres especies de bacterias.

El extracto hexánico es el que manifiesta la mejor eficiencia en las tres especies de bacterias a 4000 ppm, pero muy limitada en caso de la *Erwinia*.

LITERATURA CITADA

- Agrios, N. G. 1996. Fitopatología. 1ª Edición. Editorial Limusa. México D.F. Pp 532-533.
- Alstroem, S. 1992. Antibacterial activity of tea and coffee wastes against some plant pathogenic *Pseudomonas syringae* strains. J. Phytopathology. 136 (4): 329-334.
- Anaya, R. S., Romero N. J.1999. Hortalizas plagas y enfermedades. 1^a Ed. Ed. Trillas. México D. F. Pp 11, 15.
- Arredondo, V., D. G. 1981. Componentes de la vegetación del rancho demostrativo Los Angeles. Tesis Licenciatura UAAAN. Buenavista, Coahuila, México 284 p.
- Benner, J. P. 1993. Pesticide science. John Wiley and Sons Limited. Sussex England. Pp 95-102
- Benson, L. and R.A. Darrow, 1981. Trees and shrubs of the south western deserts. The Univ. of Arizona Press. Tucson Arizona, USA. 416 p.
- Bernal, C. A. y Armario, A. D. 2002. Impacto social del uso de los plaguicidas en el mundo. Congreso Internacional Virtual Agropecuario. UNAM. http://www.congresociva.UNAM.mx/PDR10.doc.
- Blake, S. F. 1913. Revision of the genus *Flourensia*. Proc. Amer. Acad. 49: 393-409.
- Bovey, R. 1984. La defensa de las plantas cultivadas. 2ª Ed. Editorial Omega. S.A. México D.F.
- Brenchley, C.H. y H. J. Wilcox. 1979. Potato disease. London Ministery of Agriculture. Fisherides and Food Agriculture Development and Advisory Service.
- Buffington, L. C. and Herbel C.H. 1965. Vegetation changes and semidesert grass land range from 1858 to 1963. Ecol. Monograf 35: 139-164.
- Calderoni, V. A. 1978. Enfermedades de las patata y su control. Ed. Hemisferio Sur, S.A. México
- Campos, A. J. 1977. Prácticas de bacteriología. Colegio Postgraduados. Rama de Fitopatología. Chapingo, México.
- Cartin, L. F. y Fucikovsky, L 1981. Distribución de la pierna negra de la papa en México y la supervivencia de las bacterias causales. Fitopatología. 16 (20): 55-59.
- Chaturbhuj, Gopalakrishnan. 2004. Efficacy of plant extracts against bacterial blight *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* of rice. Annals of Plant Protection Sciences. 12 (2): 344-346.
- Correl. D. S. and Johnston M.C. 1970. Manual of the vascular plants of Texas. Texas Research Fundation. Ranner, Texas, USA. 1881 p.

- Cowan, S. T. 1974. Entero bacteriaceae. Ed. Buchanan, R. E., and N. E. Gibbson Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8ed. Pp 290-293.
- Crispín, M. A. y Sifuentes, A. S. 1970. Enfermedades y plagas del frijol en México INIA. SAG. Chapingo, México 22 p.
- Diaz, S. H 1985. Control de hojasen (*Flourencia cernua* D.C) con diferentes diseños de rielen el Norte de Zacatecas, México. Tesis Maestria. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. P 30
- Diaz, Z. R. 1989. Estudio monográfico de la pierna negra (*Erwinia corotovora* var. *atroseptica (Van may) Dye .)* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Monografía. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. Pp 88-89.
- Dillon, M. D. 1976. Two especies of *Flourensia* (Asteraceae) From North Central México. The Soluth Wester. 21:145-149.
- Eckert, W. J. 1988. Historial develompment of resistance in plant pathogens. In: Fungicide resistance of North America. Delp, J. Ch. Editor. The American Phytopathologycal Society, St. Paul, Minnesota USA. Pp 1-3.
- Frank T. Jones. 1996. Molds, mycotoxins and feed preservatives in the feed industry. Departmente of Poultry Science Nort Carolina State University. Raleigh, Norh Carolina, USA 25 p.
- French, E. R. 1977. Enfermedades bacterianas de la papa en Latinoamérica. Fitopatología. 12 (2): 87-96
- Galván, A. R. 2005. Actividad biológica de extractos de hojasén (*Florencia cernua* D.C.) sobre *Fusarium sp, Rhizotonia sp ,Phytopthora sp.* Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 38 p.
- Gamboa, A. R, Hernández, C. D., Guerrero, R. E., Sanchez A. A., Lira, S. R. H. 2003. Inhibición del creciemiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhh y Phytopthora Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanolicos de Hojasén (*Flourensia cernua* D.C), mejorana (*Origenum mejorana* L.) y trompetilla [*Bauvardia ternifolia* (Ca) Schlecht]. Revista Mexicana de Fitopatologia. 21 (1) P 13
- García, A. M. 1984. Patología vegetal práctica. 2ª Ed. Ed. Limusa. S.A.
- Gardan, L., Chaumont, J. P., Chartier, R. 1978. Antibacterial activity of 200 plant extracts towards plant pathogenic bacteria. Journal of Sustainable Agriculture and the Environment. 5 (2):285-295.
- Gay, C. W., D wyer, D. D and Steger, R. E. 1970. New México range plants.. New México, Sate Univ. Unites States of América. Circ. No. 374. 85 p.

- González, E. M 1975. Distribución especial de la vegetación y su interpretación sucesional en el norte del estado de Zacatecas. Tesis Licenciatura. Chapingo. Estado de México. P 263.
- González, S. F.A. 1989. Determinación de la presistencia de la actividad bacteriana de la resina de *larrea tridentata* sobre *Pseudomonas solanacearum*.. en laboratorio e invernadero. Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo
- Goto, M. 1992. Fundamentals of bacterial plant pathology. Academic Press, Inc. San Diego, California, U.S.A.
- Guevara, Y., Maselli, A., Sanchez, M. del C. 2000. Effect of plant extracts for the control on plant pathogenic bacteria. Manejo Integrado de Plagas. 56: 38-44.
- Gutiérrez, J. A. 2004. Efecto Antifúngico in vitro de *Flourensia microphylla*, *Flourensia cernua* y *Flourensia retinophylla* SOBRE *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Tesis Licenciatura. UAAAN, Saltillo Coahuila, México. Pp 16-22.
- Herbel, C.H. and W.L Gould 1980. Managing semidesert ranges of the southwest. Cooperative Ext. Serv. New México State Univ. Circ. 456. 48 p.
- Hernández, M. M. 2000. Pruebas de efectividad biológica del producto orgánico Bela plus fungicida bactericida en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) bajo condiciones de campo. Tesis Licenciatura. UAAAA. Saltillo, Coahuila, México Pp 22,-24.
- Jasso, D. Dr., Hernández, C. D., Angulo, S. J. L., Rodríguez G. R., and Villarreal Q. J. A. 2005. Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia spp*, and *Fusarium oxysporum*. Proceding annual of the association of the advencent of industrial. Murcia Spain. Pp 427 437.
- Kennedy, B. W. and Alcorn, S. M. 1980. Estimatos of us crop losses to procaryote plant pathogens. Plant Disease. 64: 614-676
- Krupinski, G. y Sobiczewski, P. 2001. The influence of plant extracts on growth of *Erwinia amylovora* the causal agent of fire bligth. Acta Agrobotanica. 54 (2): 81 91.
- Leksoomboon, C., Thaveechai, N., Kositratana, W. 2001. Potencial of plant extracts for controlling citrus canker of lime. Kasetsart Journal, Natur Sciencies. 35 (4): 3992 396.
- Lipa, J; Jarosz, J. 1989. Inhibitory and bactericidal action of garlic preparations on *Pseudomonas lachrymans* SM et B. Carsner an etiological agent of angular spot of cucumber *P. fluorescens* migula and *P. aeruginosa*. Schroeter migula Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roslin (Poland) 30: 7-14.
- Llelliot, R. A. 1974. Erwinia. In Buchannan, R. E., and N. E. Gibbson. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8ed. Baltimore: Williams y Wilkins.Oxford, USA. Pp 332-339.

- López, F. M. C. 1994. Los caminos de la fitobacteriología. Universidad Autónoma Chapingo.1^{er} Ed. Texcoco, México. 214 p.
- López, L. J. 1989. Estudio poblacional del hojasén *Flourencia cerua* D.C en un pastizal del sur de Coahuila, México. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. Pp 7.
- Mata, R, R. Bye, E. Linares, M. R. Macias, O Pérez and B.N. Timmermann. 2003. Phytotoxic compounds of *Flourensia cernua*.. Phytochemistry. 64 (1): 285-91.
- Mayea, S. S., Padron, S. J. 1983. Bacterias y hongos fitopatógenos. Editorial Pueblo y Educación. 233 p.
- Messiaen, C.M., Blancard, P., Rouxel, F. y Lafon, R. 1995. Enfermedades de Hortalizas. Ed. Mundi-Prensa. 3a Ed. Madrid, España. Pp 50-54.
- Molina-Salinas GM, Ramos-Guerra MC, Vargas-Villarreal J, Mata-Cardenas BD, Becerril-Montes P, Said-Fernandez S. 2006. Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of mycobacterium.37(1):45-9.
- Moneral, P. L. A. 2001. Importancia de la papa (*Solanum tuberosum L.*) en la región de Navidad, Nuevo León. Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 83 p.
- Mosch, J; Klingauf, F; Zeller, W. 1990. On the effect of plant extracts against fire blight (*Erwinia amylovora*). Acta Horticulturae 273:355-361.
- Mosch, J; Zeller, C. 1989. Control of fire blight (*Erwinia amylovora*) with selected plant extracts. Narichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 41: 149-151.
- Ohata K., Serizawa S. y Shirata A. 1982. Infection source of the bacterial rot lettuce by *Pseudomonas cichorii*. Bolletin of the National Institute of Agricultural Sciences. 36: 75-80.
- Oku, H. 1994. Plant phatogenesis and disase control. Lewis Publishers. 193 p.
- Ouf, M. F., Gazar, A. A., El Sadek, S.A. M., Galal, A. A. 1991. Effect of some plant extracts on growth and enzyme activities of soft rot bacteria. Egyptian Journal of Microbiology. 26 (2): 157-169.
- Perombelon, M. C.M y Kelman, A.1980. Ecology of soft rort Erwinia., Annual Rewiew of Phytopathology. 18: 361-387.
- Sandoval, V. L. 2005. Actividad antifúngica de extractos de hojasén (*Flourensia cernua* D.C.) sobre *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Collectotrichum gloesporoides* Penz. y

- Saccardo, *Penicillium digitatum* Saccardo. Tesis de licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 29 p.
- Satish, S., Raveesha, K. A., Janardhana, G. R. 1999. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestri* pathovars. Letters in Applied Microbiology. 28 (2): 145-147.
- Schwartz, H. F. y Galvez, G. E 1980. Problemas de producción del frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 424 p.
- Segui, R. A. 1995. Efecto bactericida del filtrado de agujas de pino tolerantes a *Lophodemium* pinastri sobre *Pseudomonas solanacearum en repollo y col de brucelas*. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 44 p.
- Shenge, k. C., Akpa, A.D.2003. The effect of some plant extracts on the growth and population of *Xanthomonas campestris* pv. *Malvacearum* (Smith) Dye. Journal of Sustainable Agriculture and Environment. 5 (2): 332 337.
- Shirata A., Ohata, K., Serizawa S., y Tsuchiya Y. 1982. Relationship between the lesion development by *Pseudomonas cichorii* and growth estage and leaf position of lettuce and its infection machanism. Bulletin of the National Institute of Agricultural Science. 36, 61-73
- 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. UANL. Monterrey, N. L., México. 75 p.
- Smith, I. M., Dunes, J., Lelliot R. A., Phillips, D.H., Archer, S. A. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Ed. Mundiprensa. Madrid, España. Pp 170–228.
- Sosa, M. C., Perdome, R. F., Branthwaite, W. D. C., Salazar. C. J. J. 1997. Manual de Técnicas para el Diagnostico de las Enfermedades de las Plantas. Instituto Internacional de Cooperación para la Agricultura. 1^{era} Ed. México. Pp 68-71.
- Tanaka, Y. T. Andomuro, S. 1993. Agroactive compound of microbial origin. Annu. Rev. Microbiol. 47: 57-87.
- Tsuchiya Y., Ohata, k., Lemura H., Sanematsu, T., Shirata A. y Frijii H. 1979. Identificacition of causal bacteria of head rort of lettuce. Bulletin of the Nacional Institute of Agricultural Sciencies 33: 77 99.
- Rundel, P. W, Rosul, S.M. and González, C.A. 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. The Netherlands. Pp 114-115.
- Vines, R. A. 1960. Trees shrubs and woddy vines of the south west. University of Texas Press. Austin, Texas, USA. 1104 p.
- Velásquez, M. J. J. 1983, Evaluación del poder bactericida o bacteriostatico de la Resina de Gobernadora contra las bacterias fitopatogenas *Erwinia amylovora, Erwinia atroseptica* y *Pseudomonas solanacearum*. Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.136 p.
- Wongkaew, P., Hokawat, S., Sinsiri, W. 1997. A study on antimicrobial effects of some medicinal plant extracts against some plant pathogenic bacteria. Khon kaen Agriculture Journal. 25 (1):25-29.
- Zaccheo, A. 1990. Growth of *Erwinia amylovora* on extracts of susceptible Rosaceae. Acta Horticulturae. 273: 339-341.
- Zalewski, J. C. and Sequeria, L. 1973. Inhibition of bacterial growth by extracts from potato tubers. Phytopathology 63 (7) pp. 992-943.

APENDICE

Cuadro 1. Inhibición de los extractos de *Flourensia cernua* D. C. obtenidos con diferentes disolventes sobre *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* (Smith) Dye, tomados a las 72 h de incubación.

* Número de unidades formadoras de colonias.

SOLVENTE	Concentración		Repetio	ciones *		Promedio	% Inhibición
SOLVENIE	(ppm)	I	II	III	IV	rioineulo	76 HIIIIDICIOII
	0	628	772	448	736	646	.0
	Solvente 5 mL	508	904	370	692	618.5	4.26
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
HEXANO	500	432	226	480	484	405.5	37.23
	1000	392	344	228	288	313	51.55
	2000	132	195	163	162	163	74.77
	4000	98	106	204	44	113	82.51
	0	566	546	716	672	625	0
	Solvente 5 mL	570	560	536	854	630	-0.80 = 0 **
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
ETER	500	548	456	764	672	610	2.40
	1000	516	908	408	792	656	-4.96 = 0
	2000	576	580	476	816	612	2.08
	4000	222	180	300	212	228.5	63.44
	0	450	470	460	392	443	0
	Solvente 5 mL	520	568	510	572	542.5	-22.460 = 0
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
ETANOL	500	484	412	364	562	455.5	-2.82 = 0
	1000	488	495	504	498	496.25	-12.02 = 0
	2000	420	354	370	602	436.5	1.47
	4000	398	418	364	331	377.75	14.73
	0	700	420	588	480	547	0
	Solvente 5 mL	840	641	524	556	640.25	-17.048
METANOL:	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
CLOROFORMO	500	624	684	576	876	690	-26.14 = 0
	2000	424	592	490	300	451.5	17.46
	4000	612	424	780	372	547	0

^{**} Presenta datos negativos = 0 % inhibición.

Cuadro 2. Análisis de varianza de la inhibición de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye por efecto de extracto y concentración de *Flourensia cernua* D.C.

FV	GL	SC	CM	FC	P > F
Extracto	3	474555.455	158185.152	14.29	<.0001
concentración	5	3431145.263	686229.053	62.01	<.0001
Extracto*Concentración	15	849009.236	56600.616	5.11	<.0001
Error	69	763546.500	11065.891		
Total	92	5648344.731			

C. V. = 27.41

Cuadro 3. Comparación de medias por Tukey (P=0.05) del factor A (extractos) de *Flourensia* cernua D.C sobre la inhibición de *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli. (Smith) Dye

Extracto	UFC	
Eter	455.25	A
Metanol:Cloroformo	372.58	AB
Etanol	368.17	В
Hexano	273.42	C

Nivel de significancia = 81.36

Cuadro 4. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentración) de extractos de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye.

Concentración	UFC	
0	565.25	A
500	540.25	A
1000	483.15	AB
2000	415.75	BC
4000	316.56	C
Oxitetraciclina	0	D

Nivel de significancia = 111.1

Cuadro 5. Inhibición de extractos de *Flourensia cernua* D.C. obtenidos con diferentes solventes sobre *Erwinia carotovora* pv *atroseptica* (Van Hall) Dye tomados a las 24 h de incubación.

SOLVENTE	Concentración		Repetio	ciones *		D 1'	0/ 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
**		I	II	III	IV	Promedic	% Inhibición
-	0	46	93	86	88	78.25	0
	Solvente 5 ml	58	78	81	73	72.5	7.35
HEVANO	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.00	100
HEXANO	500	87	113	88	92	95	-21.41 = 0 ***
	1000	101	113	100	102	104	-32.91 = 0
	2000	72	87	82	106	86.75	-10.86 = 0
	4000	48	70	60	67	61.25	21.73
	0	48	50	72	57	56.75	0
	Solvente 5 ml.	57	62	55	53	56.75	0
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.00	100
ETER	500	44	57	50	51	50.5	11.01
	1000	49	68	36	62	53.75	5.29
	2000	47	55	53	76	57.75	-1.76 = 0
	4000	28	71	68	51	54.5	3.96
	0	184	192	188	222	196.5	0
	Solvente 5 ml.	172	139	150	184	161.25	17.94
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.00	100
ETANOL	500	188	211	156	195	187.5	4.58
	1000	162	175	206	199	185.5	5.60
	2000	167	164	184	165	170	13.49
	4000	164	166	186	192	177	9.92
	0	188	155	163	168	168.5	0
	Solvente 5 ml.	165	119	139	170	148.25	12.02
METANOL:	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.00	100
CLOROFORMO	500	160	145	158	171	158.5	5.93
CLOROI ORMO	1000	171	152	162	165	162.5	3.56
	2000	174	150	163	161	162	3.86
	4000	160	162	159	160	160.25	4.90

Número de unidades formadoras de colonias.

Cuadro 6. Análisis de varianza de la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye por efecto de extractos y concentraciones de *Flourensia cernua* D.C.

^{**} El análisis estadístico se realizó por separado para hexáno y metanol:cloroformo (1:1), etanol y eter por correr bioensayos separados.

^{***} Presenta datos negativos = 0 % inhibición.

FV	GL	SC	CM	FC	P > F
Extracto	1	7701.33333	7701.33333	49.84	<.0001
Concentración	5	34483.16667	6896.63333	44.63	<.0001
Extracto*Concentración	5	4006.91667	801.38333	5.19	0.0001
Error	36	5562.50000	154.51389		
Total	47	51753.91667			

C. V = 21.35

Cuadro 7. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de *Flourensia* cernua D.C sobre la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. atroseptica (Van Hall) Dye.

Extracto	UFC	
Hexano	70.88	A
Metanol:Cloroformo	45.55	В

Nivel de significancia = 7.28

Cuadro 8. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye.

Concentración	UFC.	
1000	78.88	A
500	72.75	AB
2000	72.25	AB
0	67.50	AB
4000	57.88	В
Oxitetraciclina	0	C

Nivel de significancia = 18.70

Cuadro 9. Análisis de varianza de la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye por efecto de extractos y concentraciones de *Flourensia cernua* D.C.

FV	GL	SC	CM	FC	P > F
Extracto	1	3657.5208	3657.5208	21.78	<.0001
concentración	5	200397.1042	40079.4208	238.70	<.0001
Extracto*Concentración	5	1339.6042	267.9208	1.60	0.1862
Error	36	6044.7500	167.9007		
Total	47	211438.9792			

C. V = 8.90

Cuadro 10. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de *Flourensia cernua* D.C sobre la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye.

Extracto	UFC	
Etanol	152.75	A
Eter	135.29	В

Nivel de significancia = 7.59

Cuadro 11. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van Hall) Dye.

Concentración	UFC	
0	182.50	A
1000	174.00	Α
500	173.00	A
4000	168.63	A
2000	166.00	A
Oxitetraciclina	0	В

Nivel de significancia = 19.49

Cuadro 12. Inhibición de los extractos de *Flourensia cernua* D.C. obtenidos con diferentes disolventes sobre *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp tomados a las 24 h de incubación.

	Concentración	Repeticiones *		D 1:	0/ 1 1 1 1 1 1		
SOLVENTE	(ppm)	I	II	III	IV	Promedio	% Inhibición.
	0	67	50	46	49	53.0	0.00
	Solvente 5 ml	63	52	63	72	62.5	-17.92 = 0 **
HEVANO	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.00	100
HEXANO	500	62	38	61	47	52.0	1.887
	1000	23	36	57	40	39.0	26.41
	2000	35	5	39	39	29.5	44.34
	4000	17	6	4	7	8.5	83.96
	0	69	55	73	81	69.5	0.00
	Solvente 5 mL	63	56	85	78	70.5	-1.44 = 0
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0.0	100.00
ETER	500	90	95	84	77	86.5	-24.46 = 0
	1000	63	70	46	63	60.5	12.95
	2000	62	58	38	72	57.5	17.27
	4000	59	14	31	42	36.5	47.48
	0	45	54	74	57	57.5	0.00
	Solvente 5 mlL	56	64	62	50	58.0	-0.87 = 0
	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
ETANOL	500	48	37	54	48	46.75	18.70
	1000	47	44	37	54	45.5	20.87
	2000	32	38	38	23	32.75	43.04
	4000	27	28	23	32	27.5	52.17
	0	54	39	49	50	48	0.00
	Solvente 5 mL	50	63	75	65	63.25	-31.77 = 0
METANOL:	Oxitetraciclina 48	0	0	0	0	0	100
CLOROFORMO	500	66	69	63	66	66	-37.50 = 0
	1000	45	59	36	39	44.75	6.77
	2000	37	50	48	65	50	-4.17 = 0
	4000	68	43	53	37	50.25	-4.69 = 0

^{*} Número de unidades formadoras de colonias.

Cuadro 13. Análisis de varianza de la inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp por efecto del extracto y concentración de *Flourensia. cernua* D.C.

^{**} Presenta datos negativos = 0 % inhibición.

FV	GL	SC	CM	FC	P > F
Extracto	3	6396.45833	2132.15278	21.80	<.0001
Concentración	5	40917.87500	8183.57500	83.68	<.0001
Extracto*Concentración	15	5270.29167	351.35278	3.59	0.0001
Error	72	7041.00000	97.79167		
Total	95	59625.62500			

C. V = 24.68

Cuadro 14. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor A (extractos) de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.

Extracto	UFC	
Eter	51.75	A
Metanol:Cloroformo	43.17	В
Etanol	35.00	C
Hexano	30.33	C

Nivel de significancia = 7.51

Cuadro 15. Comparación de medias por Tukey (P = 0.05) del factor B (concentraciones) de extractos de *Flourensia cernua* D.C. sobre la inhibición de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.

4
AВ
3C
\mathbb{C}
)
Ξ
_

Nivel de significancia = 10.24