

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**



**EFFECTO DE FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJASÉN
(*Flourensia cernua* D. C.) SOBRE *Fusarium oxysporum*.**

Por:

ADALBERTO UH MOO

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Junio de 2007**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

**DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**EFFECTO DE FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJASÉN
(*Flourensia cernua* D. C.) SOBRE *Fusarium oxysporum*.**

Presentada Por:

ADALBERTO UH MOO

TESIS

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:**

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO.

Aprobada

Presidente del jurado

Vocal

Dr. Fco. Daniel Castillo Hernández

Dr. Mariano Flores Dávila

Vocal

Vocal

MC. Susana Solís Gaona

Ing. José Omar Cárdenas Palomo

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

M.C. Arnoldo Oyervides García

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Junio de 2007.**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

**DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**EFFECTO DE FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJASÉN
(*Flourensia cernua* D. C.) SOBRE *Fusarium oxysporum*.**

Presentada Por:

ADALBERTO UH MOO

TESIS

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:**

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO.

Comité de Asesoría

Directo Interno

Vocal

Dr. Fco. Daniel Castillo Hernández

Dr. Mariano Flores Dávila

Director externo

Vocal

MC. Susana Solís Gaona

Ing. José Omar Cárdenas Palomo

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Junio de 2007.**

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme hasta ahora en mi vida y por permitirme vivir en su camino, la cual me dado la oportunidad para prepararme en la vida, Gracias Señor Jesús y mucho más...

Al Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez. Mis más sinceros y profundo agradecimiento por su apoyo como asesor de este trabajo y por todas las atenciones que el me brindó para poder concluir con el presente trabajo. Que Dios lo tenga en su gloria, descanse en paz.

Al Dr. Daniel Hernández Castillo por su colaboración y su disponibilidad de ayudarme a concluir con este trabajo, por su tiempo que me brindo cuando lo necesité y para que sea mejor.

Al Dr. Mariano Flores Dávila que gracias a su colaboración pude sacar adelante el trabajo que les presento, por darme ánimo de salir siempre adelante.

A la MC. Susana Solís Gaona por la esperanza que puso en mí al confiarme el presente trabajo por su ayuda incondicional y orientación para desglosarlo por medio de su experiencia y también su amistad que me brindo; así también como a su esposo el Ing. Omar Cárdenas Palomo que me ayudó y me brindo su apoyo junto con su esposa muchísimas gracias amigos.

Al Dr. Ismael por el tiempo que me brindó por ayudarme a realizar los cálculos estadísticos de esta tesis, mil gracias.

A mis amigos que de una y de otra forma me han ayudado en la realización de este trabajo especialmente a Gleyber, Jorge, Tzec, Isaías can, Veleta, Cahuich, A los del Paraíso 18; a Marcos, Ezequiel, Eric y Nelson.

A mis compañeros de la carrera a quienes los recordaré siempre por haber convivido mi estancia en la universidad junto con ellos, a mi amigo Inés Juárez, Rosina, Mariana y luz, como a Leo, Danny, Willy, Abimael, Santiago, Alfredo, Alermo a todos ellos por pasar momento inolvidables y a toda mi generación CII.

Al Departamento de Parasitología, a todos mis profesores al Dr. Oswaldo, Dr. Abiel, y al personal por brindarme material y ayuda cuando los necesite en especial a Miguel por haberme ayudado de los materiales de laboratorio, así como a Rebeca por sus atenciones que tuvo conmigo dentro y fuera del laboratorio.

A mi Alma Terra Mater por haberme cobijado y darme la oportunidad de formarme en una persona moral y de cumplir mis sueños y de mi familia siempre lo llevaré en mi corazón y su nombre en lo alto...

DEDICATORIA

A mis Padres:

Sr. Manuel Jesús Uh Moo

Y

Sra. Rita María Moo Tzec

Por su infinito amor y confianza que me han brindado a lo largo de mi carrera profesional en cada instante de la vida. Que gracias por su apoyo hoy he concluido una etapa más en mi vida, la cual viviré eternamente agradecido por ser la herencia mas valiosa que se le puede dar a un hijo que por medio de sufrimiento y desvelos que me han brindado he logrado lo que tanto quiero en mi vida. Gracias Papá y Mamá.

Que Dios siempre los bendiga.

A mis hermanos:

*Quienes siempre han estado conmigo y por su apoyo incondicional y mucho amor, comprensión y confianza que me depositaron, gracias a ellos por todo lo que hemos pasado momentos de alegría y tristeza. A **Gualter, Eisler, Abigail, Jeremías, Alicia, Gener, Citlali, Alan, Naila y Riquelme.***

Dios me los guarde por siempre y los bendiga.

En especial a mi hermanita

Nelly del Rosario Uh Moo.

También a mis abuelos:

***Audomaro, Marcelino y Martina** que por sus palabras me han motivado gracias a esos alientos que me animaron y por apreciarme, la cual se los agradezco.*

A mis Tíos:

***Arturo y Socorro; Venustiano y Dulce; Fermín y María; Armando y Juana; Rubén y Ana;** Por la forma en que me animaron y guiarme a través de sus mensajes, Gracias.*

A mis Primos:

***A Isaías, Abraham, Esteban, Germán,** entre otros, por las locuras donde hemos pasado y de lo convivido con ellos en tiempos vacacionales por toda la felicidad que la vida nos ha brindado.*

*A Ti **Sandra Leticia** Mi Amor por todo lo que hemos vivido y el tiempo en que nos conocemos lo cual que por tus palabras de amor y aliento y por animarme a seguir adelante. Que Dios nos cuide siempre y nos bendiga. Gracias, De **Adal.***

INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	I
ÍNDICE DE CUADROS DEL APENDICE.....	II
INTRODUCCIÓN.....	1
LITERATURA REVISADA.....	3
Hojasén <i>Flourensia cernua</i> D.C.....	3
Ubicación taxonómica.....	3
Importancia.....	3
Especies del genero <i>Flourensia</i>	4
Nombres comunes.....	4
Distribución geográfica.....	5
Descripción botánica.....	5
Reproducción.....	6
Usos actuales.....	7
Importancia de los extractos.....	7
Hongos fitopatógenos.....	11
Morfología.....	12
Reproducción.....	12
Género <i>Fusarium</i>	14
Importancia.....	14
<i>Fusarium oxysporum</i>	14
Ubicación taxonómica.....	14
Morfología Colonial en PDA.....	15

Características de Diagnóstico en Medio de Cultivo Hojas de Clavel Agar (CLA).....	15
Control.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Colecta de material.....	17
Aislamiento y cultivo del hongo <i>Fusarium oxysporum</i>	18
Separación de Fracciones de extractos etanolicos.....	18
Evaluación de fracciones sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	19
Análisis Estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
Rendimiento de fracciones.....	22
Efecto de fracciones a tres concentraciones sobre <i>F. oxysporum</i> a 24, 48 y 72	25
Efecto de fracciones a tres concentraciones sobre <i>F. oxysporum</i> a 24 h de incubación.....	29
Efecto de fracciones a tres concentraciones sobre <i>F. oxysporum</i> a 48 h de incubación.....	31
Efecto de fracciones a tres concentraciones sobre <i>F. oxysporum</i> a 72 h de incubación.....	34
DISCUSION GENERAL.....	37
CONCLUSIONES.....	39
LITERATURA CITADA.....	41
APENDICE.....	45

INDICE DE CUADRO

- Cuadro 1.-** Rendimiento de fracciones obtenidas por cromatografía de columna de extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC.
- Cuadro 2.-** Promedio de lecturas de Absorbancia a 24, 48 y 72 h de las 29 fracciones de extracto etanólico de *F. cernua* a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm sobre *F. oxysporum*.
- Cuadro 3.-** Promedio de lecturas de absorbancia de concentraciones de las fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* D. C. sobre *F. oxysporum* a 24, 48 y 72 h.
- Cuadro 4.-** Promedio de las lecturas de absorbancia a través del tiempo de las fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* D. C. a 500, 1000 y 2000 ppm.
- Cuadro 5.-** Promedio de lectura de absorbancia a 24 h de las 29 fracciones de extracto etanólico de *F. cernua* a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm sobre *F. oxysporum*.
- Cuadro 6.-** Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm), a 24 h.
- Cuadro 7.-** Promedio de lectura de absorbancia a 48 h de las 29 fracciones de extracto etanólico de *F. cernua* a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm sobre *F. oxysporum*.
- Cuadro 8.-** Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm), a 48 h.
- Cuadro 9.-** Promedio de lectura de absorbancia a 72 h de las 29 fracciones de extracto etanólico de *F. cernua* a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm sobre *F. oxysporum*.
- Cuadro 10.-** Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm), a 72 h.

INDICE DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro A.1.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 24 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 10,000 ppm).

Cuadro A.2.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 48 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 10,000 ppm).

Cuadro A.3.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 72 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 10,000 ppm).

Cuadro A.4.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 24 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Cuadro A.5.- Valores de de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 48 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Cuadro A.6.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 72 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Cuadro A.7.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 24 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 40,000 ppm).

Cuadro A.8.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 48 (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 40,000 ppm).

Cuadro A.9.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 72 h (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 40,000 ppm).

INTRODUCCIÓN

Entre los factores que limitan la producción agrícola y la calidad de las cosechas están las enfermedades y las plagas, las cuales pueden atacar los cultivos desde que las plantas inician su crecimiento hasta la cosecha y aun en almacenamiento. Los plaguicidas permiten controlar la proliferación de plagas y enfermedades de los cultivos y del ganado; cantidades importantes de estos se emplean en su control afectando la economía del hombre. A demás es necesario destacar que su aplicación indiscriminada puede ocasionar daños en el ambiente como; deterioro de la fauna y flora silvestre, contaminación del suelo, de mantos fríaticos, a demás de afectar la salud humana al causar efectos nocivos como intoxicaciones de diverso grado y efectos que pueden presentarse a mediano y a largo plazo, como carcinogenesis, esterilidad, mutagénesis y otros (Takuyaki y Leonard, 1993).

En países en vías de desarrollo, los pesticidas envenenan a las personas al igual que animales e insectos. Se estima que en 85 países en vías de desarrollo que recurren al uso de químicos, sufren entre 10,000 y 40, 000 pérdidas de vidas anuales a causa de intoxicaciones y alrededor de un millón de casos de envenenamiento (COPESA, 2004).

Por todo esto, en nuestro país se debe impulsar mas el sistema de manejo integrado de plagas, el cual consiste en el uso de dos o más métodos de control como son: el genético, el biológico, el legal, el cultural y el químico, para reducir

problemas en el hombre y eficientar el control de plagas y enfermedades (CICOPLAFEST, 1994).

Tomando en cuenta los daños que ocasionan los plaguicidas en el ambiente y en la salud humana, en nuestro país se están analizando diversos estudios acerca del control biológico de plagas y enfermedades; así como del uso de extractos de plantas con capacidad fungicida e insecticida. Al respecto, existen reportes promisorios de evaluaciones *in vitro* de diversos extractos o aceites provenientes de plantas con actividad antifúngica, lo cual nos da la pauta para realizar estudios y determinar su factibilidad como alternativa para el control de enfermedades, en una forma que nos permita reducir la contaminación ambiental del suelo, agua y daños a la salud de todos los seres vivos, etc. (Lira, 2001).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo tiene como finalidad determinar la actividad biológica de la respuesta de *Fusarium oxysporum* a fracciones del extracto etanólico de hojásén (*Flourensia cernua* D. C.) obtenidas por cromatografía.

LITERATURA REVISADA

Hojasén *Flourensia cernua*

Ubicación Taxonómica

Vines (1960) se ubica taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino: Methophyto

Clase: Angiospermae

Orden: Compunulatae

Familia: Asteraceae

Genero: *Flourensia*

Especie: *cernua* D.C.

Importancia

El Hojasén es una planta del desierto que es usada en la agricultura para cercas vivas y protección de cultivos, es empleada en el área rural para la construcción de techos y paredes y 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.

Especies del Género *Flourensia*

Blake (1913), describe 23 especies del género *Flourensia*; nueve mexicanas y 14 sudamericanas; Correl y Jhonston (1970) indican que *Flourensia* es un genero de 24 especies distribuidas en Norteamérica y Sudamérica; Dillon (1976) reporta dos nuevas especies de este género encontradas en el estado de Chihuahua (*Flourensia pulcherina* y *F. monticola*) y Loach (1980), menciona que el género está compuesto por 29 especies (Gutiérrez, 2004).

Nombres Comunes

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

La Gobernadora (*Larrea tridentata*) y el hojasén (*Flourensia cernua*) son arbustos nativos, perennes, ecológicamente dominantes y ampliamente distribuidas en las zonas semiáridas en los desiertos chihuahuense y sonoreense del norte de México; así como en el desierto de 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 está cubierta con estos arbustos del semidesierto) (Belmares *et*

al., 1979 citados por Gutiérrez, 2004), los cuales han desarrollado diversas adaptaciones para tolerar las sequías y las altas temperaturas.

Distribución Geográfica

El hojaseén se encuentra en suelos con gran cantidad de carbonato de calcio y en suelos arenosos (Blake, 1913; Buffington y Herbel. 1965). En México se encuentra en los estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, San Luís Potosí, Zacatecas y México, D. F. (Vines, 1960). Silva (1980) la reporta en el sur de Nuevo León. Es un componente de la Sierra Madre Oriental del Bolsón de Mapimí, esta región comprende una 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 msnm (Gay, *et al.*, 1970), sin embargo, Arredondo (1981); González (1975) y Silva, (1980) menciona que la altitud predominante son los 1900 msnm y pendientes del 1 al 6%.

Descripción Botánica

F. cernua es un arbusto muy ramificado con una altura hasta 2 m, que exuda una sustancia resinosa con olor a alquitrán (Correl y Johnston, 1970). La planta tiene ramas delgadas, resinosas, color café a gris (Vines, 1960) con hojas alternas,

compuestas de dos folíolos, elípticas a oblongas de 17 a 25 mm de largo y 6.5 a 11.5 mm de ancho, agudas a ambos lados, haz verde oscuro y a veces resinoso, envés más pálido y pecíolo de 1-2,5mm (Correl y Johnston, 1970). Las flores son cabezuelas en corimbos o panículas y presentan de 12 a 20 flores por cabezuela (Vines, 1960). El fruto es un aquenio muy veloso 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. Pérez (1964) citado por López (1989) menciona, que el sistema radical es pivotante de color café oscuro, de consistencia leñosa y poco flexible.

Reproducción

Sexual. El Hojasén se reproduce por semilla (Fisher, 1975 citado por Gutiérrez, 2004). 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, se reporta que el hojasén solo puede representar reproducción vegetativa a partir de secciones del tallo (Fisher, 1975 citado por Gutiérrez, 2004). Díaz (1985) citado por López (1989) 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 producción vegetativa a partir de secciones del tallo.

Usos Actuales

En la actualidad los campesinos de nuestro país utilizan esta especie como remedio para problemas digestivos. Por otra parte, soluciones de hojasén usando concentraciones altas han demostrado propiedades antifungicas contra especies como *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* por lo que tiene potencial como fungicida agrícola (Gamboa, 2002).

Estudios realizadas a esta planta para conocer sus componentes químicos, haciendo uso de solventes como: hexano, éter dietílico y etanol, han permitido identificar que los extractos con hexano liberaron monoterpenoides, y con éter y etanol sesquiterpenoides obteniendo grandes cantidades con el etanol. Dichos extractos se evaluaron contra hongos, algas y termitas mostrando resultados positivos (Téllez *et al.*, 2001).

La planta de hojasén no solo contiene compuestos químicos fungicidas; otro estudio demostró que también por sus compuestos químicos que inhiben el crecimiento de otras plantas como; el *Amaranthus hypocondriacus* y *Echinochloa crusgalli* (Mata, 2003).

Importancia de los extractos

México es incluido entre los países con mayor diversidad vegetal en el mundo; a pesar de ella, solo a una pequeña cantidad de estos se les da alguna utilidad;

algunas personas empíricamente les han dado varias de ellas una utilidad medicinal, en algunos casos contra problemas infecciosos de origen fúngico. Al respecto se han hecho pruebas en 206 especies de plantas contra 26 especies de hongos fitopatógenos incluyendo pruebas de germinación de esporas, desarrollo micelial y esporulación. Los resultados indican que existe una alta proporción de las plantas que actúan contra los hongos afectando su inhibición (Montes, 2000).

Aceites esenciales extraídos de las plantas, se han probado mostrando buenas propiedades como pesticidas (fungicidas, bactericidas e insecticidas), en pruebas con 345 extractos de plantas, 13 mostraron buena actividad fungicida, dentro de las especies predominantes están el *Allium* y *Capsicum* (Wilson *et al.*, 1999). Pruebas con 49 aceites esenciales extraídos de plantas, muestran que la palmarosa (*Cymbopogon martin*), tomillo rojo (*Thymus zygis*), hojas de canela (*Cinnamomum*) y clavo (*Eugenia caraphyllata*) mostraron buena actividad fungicida contra *Botrytis cinerea* (Wilson *et al.*, 1999)

En el estado de Morelos, México, se estudió el efecto de extractos acuosos y polvos de hojas de 20 diferentes especies vegetales in vitro sobre hongos fitopatógenos de postcosecha como; *Alternaria spp*; *Pestalotiopsis spp*; y *Rhizopus spp*. Señalando que *Pithecellobium dulce*, fue la especie botánica más sobresaliente en inhibir el desarrollo de los hongos bajo estudio. Otras especies con actividad fungicida o fungistático fueron: zapote (*Achras sapota*), chirimoya (*Annona chirimoya*), zapote blanco (*Casimiroe dulis*), limón (*Citrus limon*), cedro (*Crataegus*

mexicana), papaya (*Carica papaya*), guayaba (*Psidium guayava*), aguacate (*Persea mexicana*) y *Spondias purpurea* (Bautista, et al., 2000).

Residuos de las plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*) y epazote (*Chenopodium ambrosioides*), se incorporaron al suelo, en una proporción de 10 g de residuo seco de cada una de las plantas, mas 90g de suelo infestado con *R. solani*, bajo condiciones de invernadero. Los resultados de los tratamiento de epazote + *Rhizoctonia* y gobernadora + *Rhizoctonia* los cuales presentan los mejores porcentajes de germinación de semilla 92.9 y 88 % respectivamente, esto en comparación con los testigos infestados con *R. solani* y *P. aphanidermatum* sin los residuos de las plantas mostrando un 16 y 8% de germinación de las semilla respectivamente (Salazar et al., 1992).

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

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

El estudio del efecto de aceites esenciales de las plantas, sobre *F. moniliforme*, muestran buenos resultados con aceites de: romero (*Rosmarinus officinalis* L), albahaca (*Ocimum basilicum* L.), Laurel (*Litsea glaucescens*), orégano (*Origanum vulgare*), hierbabuena (*Mentha piperita*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), Canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), Tomatillo (*Thymus vulgaris*) y epazote (*Teucrium ambrosioides*); todos los tratamientos mostraron efecto fungicida, excepto *R. officinalis* y *L. glaucescens* en los que hubo efecto fungistático (Bravo *et al.*, 1998).

Friare *et al.*, (1993) citan que evaluaron 85 especies de plantas para observar la respuesta del *P. infestans* en extractos acuosos. Los resultados arrojaron que dichos extractos solo retrasan el grado del daño en los primeros días. A los 12 días solo la hierbabuena expresa un menor grado el daño.

Estudios con extractos etanólicos de hojásén (*Flourensia cernua*), mejorana (*Origanum majorana*), trompetilla (*Bouvarnia ternifolia*) y gobernadora (*Larrea tridentata*); contra *P. infestans* y *R. solani*, muestran que los extractos de hojásén, mejorana y trompetilla tuvieron acción fungistática contra *R. solani*, inhibiendo el crecimiento micelial con respecto al testigo con un 70.8, 80.0 y 84.8 % respectivamente.

Contra *P. infestans* se logró un efecto fungicida con la mejorana; con hojásén y trompetilla tubo acción fungistática de 67.3 y 35 %. Los extractos de gobernadora resultaron con acción fungicida contra *P. infestans* y contra *R. solani*. (Gamboa, 2002)

Hongos Fitopatógenos

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100,000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprófitas y viven sobre la materia orgánica muerta a la que descomponen. Alrededor de 50 especies de hongos producen enfermedades del hombre y casi el mismo número ocasiona enfermedades en los animales, la mayoría de los cuales son enfermedades superficiales de la piel o de sus apéndices. Sin embargo, más de las 8,000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas. Todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de los hongos parásitos ataca a uno o más tipos de plantas. Algunos hongos crecen y se reproducen sólo cuando establecen una cierta asociación con las plantas que les sirven de hospedante, durante todo su ciclo de vida estos hongos se les conoce como parásitos obligados o biótropos. Otros requieren de una planta hospedante durante una cierta etapa de su ciclo de vida, el cual lo puede concluir desarrollándose en materia orgánica muerta o bien creciendo y reproduciéndose tanto en materia orgánica muerta como en plantas vivas como ejemplo los parásitos no obligados (Agrios, 2001).

Morfología

La mayoría de los hongos tienen un cuerpo o soma que consta de filamentos microscópicos continuos más o menos alargados y ramificados que tienen paredes celulares definidas. Al soma del hongo se le denomina micelio, y a las bifurcaciones que tienen paredes individuales o filamentos del micelio se les denomina hifa. Cada hifa o micelio puede tener un grosor uniforme o pueden terminar en porciones más delgadas o más anchas. Las hifas de algunos hongos tienen un diámetro de tan sólo $0.5\ \mu\text{m}$, mientras que otras tienen un espesor de más de $100\ \mu\text{m}$. En algunos hongos, el micelio tiene una longitud de tan sólo unos cuantos micrómetros, pero en otros producen filamentos miceliales de varios metros de longitud.

En algunos hongos, el micelio está constituido por células que contienen uno o dos núcleos por célula. En otros, el micelio es cenocítico, es decir, contienen muchos núcleos y está integrado por una célula multinucleada continua y tubular que pueden o no ramificarse, o bien puede estar dividido por varias paredes transversales (septos), de ahí que cada segmento representa una hifa multinucleada. El crecimiento del micelio se produce en la puntas de las hifas (Agris, 2001).

Reproducción

Los hongos se reproducen principalmente mediante esporas. Las esporas son estructuras reproductoras o especializadas para la propagación del hongo, que consta de una o varias células. Estas estructuras pueden formarse asexualmente

(mediante la reproducción por el micelio del hongo, de células individuales especializadas, -las esporas- sin intervención de cariogamia o meiosis) o ser el resultado de un proceso sexual.

En los hongos inferiores, las esporas asexuales se forman en el interior de un saco denominado esporangio y se disemina en el momento en que se rompe esta estructura o a través de una abertura que posee. Algunas de estas esporas se mueven por medio de flagelos y se les denomina zoosporas. Otros hongos reproducen esporas asexuales denominadas conidias, que se desprenden de las células terminales o laterales de hifas especializadas denominadas conidióforos. En algunos hongos, las células terminales o intercalares de una hifa se alargan, están rodeadas por una pared densa y se separan para formar clamidosporas. En otros grupos de hongos, las esporas asexuales (conidias) se forman en cuerpos fructíferos (Agrios, 2001).

La reproducción sexual, o los procesos que se asemejan a ella, se presentan en la mayoría los grupos de hongos. En algunos de ellos, un par de células (gametos) de tamaño y forma semejante se fusionan y producen un cigoto, denominado zigospora. En otros grupos, los gametos son de tamaño distinto y al cigoto que forman se le denominan oosporas. En algunos hongos, no se forman gametos definidos, y en lugar de ello un micelio se fusiona con otro micelio compatible. La clase Ascomycetes produce habitualmente ocho esporas sexuales en el interior de la célula o cigoto (el asca) y a esas esporas se les denomina ascospora. Los hongos de la clase Basidiomycetes forman sus esporas sexuales

fuera de la célula o cigoto (denominada basidio) y esas esporas se les denominan basidiosporas (Agrios, 2001).

Género *Fusarium*

Importancia

Varias especies de *Fusarium* y sus formas especiales, producen un gran número de enfermedades tales como: Marchitez vascular, pudrición de la semilla y plántula (ahogamiento), pudrición de raíz, tallos inferiores, corona, tubérculos, etc., afectando a muchas plantas que pertenecen a familias muy poco emparentadas (Agrios, 2001).

Fusarium oxysporum

Fusarium oxysporum tienen varias formas especiales que infecta una gran variedad de hospederos.

Ubicación Taxonómica

Alexópoulos y Mims (1979), la ubica de la siguiente manera:

Reino: Myceteae

División: Amastigomycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Genero: *Fusarium*

Especie: *oxysporum*.

Morfología Colonial en PDA

Fusarium oxysporum es altamente variable respecto a la morfología colonial. Produce abundante micelio de color que va desde blanco a violeta pálido. Macroconidias abundantes de color naranja pálido a violeta pálido. *F. oxysporum* usualmente produce un pigmento pálido a violeta pálido aunque algunos aislados no producen ningún pigmento (Burgess, 1988).

Características de Diagnóstico en Medio de Cultivo Hojas de Clavel Agar (CLA).

La macroconidia es formada en esporodoquios abundantes de color naranja pálido. La macroconidia es de tamaño pequeño a mediano, falcadas en algunas cepas, pared delgada y usualmente en tres septos, algunas veces agudas o estrechas en el borde. Algunas cepas tienen célula apical pequeña y con un ligero gancho, con la célula basal en forma de pie.

La macroconidia es formada de monofialides en ramificaciones de conidióforos en esporodoquio y en algunos casos se forma en monofialidos o de hifas. Normalmente no es septada y son ovals, elípticas o reniformes. (Lester, W. 1988).

Las clamidosporas se forman abundantemente; en algunos aislados saprófitos del suelo.

Control

Agrios, (2001) señala algunas alternativas de control para esta enfermedad son:

- Usar variedades resistentes, (actualmente se dispone de varias, en ciertos cultivos).
- Esterilizar los almácigos y sembrar semilla sana.
- Usan hongos antagonistas, algunas formas especiales de *F. oxysporum*, *Trichoderma* y bacterias del género *Pseudomonas* han dado buenos resultados.
- Usan plásticos transparentes durante el verano disminuye la incidencia de la enfermedad.
- Mendoza (1983), además agrega para el control de esta enfermedad se puede recurrir a:
 - Tratar la semilla con agua caliente por 20 min. a 50 °C, para matar al patógeno.
 - No fertilizar con demasiado nitrógeno y evitar deficiencias de potasio.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este experimento se evaluaron las fracciones obtenidas por separación en cromatografía de columna de extracto etanólico de hojas de hojásén (*F. cernua*) sobre *Fusarium oxysporum*, dado que este extracto fue el más efectivo para inhibir hongos en estudios previos (Galván, 2005; Solís-Gaona *et al.*, 2005). Más adelante, se redacta la forma de obtención de las fracciones, así como la evaluación de las fracciones sobre *Fusarium oxysporum*.

Colecta de Material

El material vegetal se colectó en el ejido la Encantada, Saltillo, Coahuila a 15 km de la UAAAN a la orilla de la carretera 57, se colectaron los 10 cm terminales de las ramas que tuvieran mayor número de hojas y que no estuvieran dañadas, se utilizaron tijeras para podar, colocándolas en bolsas negras de plástico y se transportaron de inmediato a la universidad donde se guardaron en un cuarto frío a 4 °C para evitar la descomposición o transformación de sus componentes químicos activos. Posteriormente con unas tijeras o con las manos se deshojaron las ramas, las que se colocaron en bolsas de plástico, se etiquetaron y se guardaron en un congelador a -20 °C para su conservación hasta su utilización.

Aislamiento y Cultivo de Hongo *Fusarium oxysporum*

El hongo bajo estudio se obtuvo de plantas de tomate que presentan síntomas de la enfermedad. Las partes vegetales enfermas se cortaron con bisturí y pinzas esterilizadas, se desinfectaron con cloro al 3% y se enjuagaron con agua destilada estéril. Las muestras se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) para aislar *Fusarium oxysporum*, bajo condiciones de asepsia en una cámara de flujo laminar, enseguida las cajas se colocaron en una incubadora a una temperatura de 25 ± 2 °C para el crecimiento del hongo. Una vez aislado, purificado e identificado el hongo se incrementó en el medio de cultivo PDA con explantes de micelio de 4 mm de diámetro, tomado del borde de la colonia y se incubaron a 25 ± 2 °C. Para la identificación del hongo se realizaron preparaciones microscópicas considerando las claves de Lester W. (1998).

Separación de Fracciones de Extracto Etanólico

Las fracciones fueron obtenidas por separación en cromatografía de columna con un sistema de eluyentes hexano (10-0), acetato de etilo (0-10) y metanol (5-5). Se obtuvieron 64 fracciones de 1.516 % volumen cada una por columna, de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Se utilizó sílica gel saturada en hexano: acetato de etilo (1:1) para el empacado de la columna, sobre la cual se dejaron pasar los eluyentes que viene siendo la mezcla de gradientes de los tres solventes ya mencionados,

en la parte inferior se colocaron matraces para coleccionar o recuperar los 5 ml por fracción de un total de 320 ml por columna.

2. Se evaporaron los solventes en baño María y se obtuvo el rendimiento de cada fracción. (Nuño, 1997).

Evaluación de Fracciones Sobre *F. oxysporum*

La evaluación se llevó a cabo en placas costar ® para microtitulación de 96 pocillos, vaciando en cada pocillo 100 µl de medio de cultivo RPMI 1640 (MetrixLab, S.A de C.V.), 90 µl de solución conidial de *F. oxysporum* a 1×10^4 previamente preparada en RPMI 1640 y 10 µl de solución madre de cada fracción también previamente preparada, dando un total de 200 µl para lo cual se siguieron los siguientes pasos;

- a) Se prepararon tres soluciones madre para obtener tres concentraciones a 500, 1000 y 2000 ppm de cada una de las 29 fracciones que presentaron suficiente rendimiento de resina en un volumen final de 200 µl por pocillo, para lo cual se disolvieron los miligramos necesarios en etanol grado reactivo apoyándose en la siguiente fórmula; $C1 * V1 = C2 * V2$, Donde C1 significa la concentración a la que debe estar la solución madre de cada fracción para que al tomar 10 µl (V1) de esta y vaciarlos a un volumen total de 200 µl (V2) por pocillo quede la concentración deseada (C2); esto es $C1 = (C2 * V2) / V1$, ejemplo para 1000 ppm; $C1 = (1000 \text{ ppm} * 200 \text{ µl}) / 10 \text{ µl}$, $C1 = 20000 \text{ ppm}$ ó 20000 µg /mL de etanol.

- b) El medio de cultivo se esterilizó con filtro Millipore (Stericup de Millipore S. A de C. V.).
- c) Se hizo una dilución de conidias a 10 000 conidias/ml en medio RPMI 1640, para lo cual se hizo un conteo de una suspensión de esporas obtenida de una colonia de *F. oxysporum* de tres días de edad en cámara de Neubauer al microscopio compuesto.
- d) Se vació a las placas primero el medio RPMI 1640, seguido por la solución conidial y finalmente la concentración de cada fracción.
- e) Se acomodaron en las placas los tratamientos como sigue; 29 fracciones a 3 concentraciones 2000, 1000 y 500ppm con 6 repeticiones y cada repetición constó en un pocito.
- f) Se tomaron lecturas de absorbancia de los tratamientos a 0, 24, 48 y 72 h, con filtros 545-630 nm mediante lector de placas Stat fax 2100.
- g) También se puso un testigo con solo medio RPMI 1640 más conidias, con la finalidad de observar su crecimiento a 24, 48 y 72 horas.
- h) Por último el efecto de las fracciones sobre el hongo se determinó por diferencia de absorbancia de cada una de las fracciones con respecto al testigo (medio+ hongo).

Método de Análisis

Para el análisis estadístico del presente trabajo se utilizó un diseño completamente al azar, con factoriales A x B x C, donde A es a 29 fracciones, B es igual a

concentraciones (ppm) y C equivale a tiempo (h). Las lecturas obtenidas de absorbancia, se analizaron estadísticamente por el programa estadístico SAS. Además realizaron las comparaciones de medias de las 29 fracciones mediante la prueba de Tukey (DMS= 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el siguiente apartado se presentan los resultados estadísticos obtenidos de las evaluaciones de 29 fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* sobre *Fusarium oxysporum*. En atención a datos de absorbancia y datos transformados a veces de inhibición de *F. oxysporum*.

Rendimiento de Fracciones

En el Cuadro 1 podemos apreciar que el rendimiento de las fracciones está dado de acuerdo al sistema de solventes utilizados, la mezcla de solventes hexano : acetato de etilo con proporción (2:8) obtuvo la mayor cantidad de resina de 167.5 mg y 145.4 mg de rendimiento (10.8 % y 9.4 % de peso) las cuales pertenecen a las fracciones F25 y F26 a su vez es seguido por la F27 proporción (1:9) que tuvo 139.2 mg (9 % de peso) siendo estas tres fracciones las de mas alto rendimiento. Así, también, podemos apreciar otras fracciones que tuvieron buen rendimiento, sus pesos y proporción de eluyentes es variable (F12, F13, F22, F23, F24, F29, F30, F31 y la F32).

También se encuentra la mezcla de acetato de etilo + metanol con proporción (5:5), con un rendimiento de 50.1 mg y 3.2 %. El rendimiento de las fracciones F33 a F42, oscila entre 45.9 mg (3 % de peso) a 14.6 mg (0.9 % de peso), y de la F44 a 49 entre 14 mg a 50.1 mg, la F51 con 15 mg, observamos que existe un rendimiento variable de acuerdo a las proporciones de eluyentes utilizadas.

Cuadro 1. Rendimiento de fracciones obtenidas por cromatografía de columna de extracto etanólico de *Flourensia cernua* DC.

Fracciones 1.56% v/v cada una	Eluyentes (proporción)			Rendimiento (mg)	Rendimiento (% p/p)
	Hexano	Acetato de etilo	Metanol		
F1 a F3	10	0	0	0.0	0.0
F4 a F6	9	1	0	0.0	0.0
F7 a F8	8	2	0	0.0	0.0
F9	7	3	0	7.9	0.5
F10	7	3	0	1.2	0.1
F11	7	3	0	6.7	0.4
F12	6	4	0	72.8	4.7
F13	6	4	0	21.6	1.4
F14	6	4	0	9.3	0.6
F15	5	5	0	4.9	0.3
F16	5	5	0	1.9	0.1
F17	5	5	0	1.8	0.1
F18	4	6	0	1	0.1
F19	4	6	0	1.2	0.1
F20	4	6	0	0	0.0
F21	3	7	0	1.1	0.1
F22	3	7	0	40.4	2.6
F23	3	7	0	87.8	5.6
F24	2	8	0	80.9	5.2
F25	2	8	0	167.5	10.8
F26	2	8	0	145.4	9.4
F27	1	9	0	139.2	9.0
F28	1	9	0	4.7	0.3
F29	1	9	0	96.4	6.2
F30	0	10	0	95	6.1
F31	0	10	0	75	4.8
F32	0	10	0	63.1	4.1
F33	0	10	5	45.9	3.0
F34	0	10	5	26.8	1.7
F35	0	10	5	24.7	1.6
F36	0	9	5	21.6	1.4
F37	0	9	5	18.9	1.2
F38	0	9	5	5.2	0.3
F39	0	8	5	17.1	1.1
F40	0	8	5	15.9	1.0
F41	0	7	5	15.9	1.0
F42	0	7	5	14.6	0.9
F43	0	7	5	11.6	0.7
F44	0	6	5	14	0.9

Continuación Cuadro 1					
Fracciones 1.56% v/v cada una	Eluyentes (proporción)			Rendimiento	Rendimiento
	Hexano	Acetato de etilo	Metanol	(mg)	(% p/p)
F45	0	6	5	16.2	1.0
F46	0	6	5	16.1	1.0
F47	0	5	5	13.2	0.8
F48	0	5	5	50.1	3.2
F49	0	5	5	24.1	1.6
F50	0	4	5	4.4	0.3
F51	0	4	5	15	1.0
F52	0	4	5	2.2	0.1
F53	0	3	5	6.6	0.4
F54	0	3	5	5.4	0.3
F55	0	3	5	4.1	0.3
F56	0	2	5	4.6	0.3
F57	0	2	5	6	0.4
F58	0	2	5	4.9	0.3
F59	0	1	5	4.6	0.3
F60	0	1	5	4.3	0.3
F61	0	1	5	3.6	0.2
F62	0	0	5	2.7	0.2
F63	0	0	5	3.8	0.2
F64	0	0	5	3.8	0.2
				1554.7	100.0

De las 64 fracciones obtenidas, se seleccionaron 29 fracciones (con color negritas en el cuadro 1) que son las que tuvieron un rendimiento aceptable, el resto presentaron un pobre rendimiento e incluso algunas fracciones no tuvieron rendimiento (F1 a F8); de la F1 a F3 de la mezcla de hexano y acetato de etilo proporción (10:0), la F4 a F6 de la mezcla de hexano y acetato de etilo (9:1) y la F7 a F8 de la mezcla de hexano y acetato de etilo con una proporción de (9:2). Por último, haciendo una sumatoria de rendimiento de las 64 fracciones se obtuvo un rendimiento de 1554.7 mg que es igual al 100 %.

Efecto de Fracciones a Tres Concentraciones Sobre *F. oxysporum* a 24, 48 y 72 h.

En el cuadro 2 se muestra el comportamiento de la interacción de las 29 fracciones del extracto etanólico de hojaseñ (*F. cernua*) a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm, a través de 24, 48 y 72 h.

Los resultados están expresados como el incremento o disminución de los valores de absorbancia a 24, 48 y 72 h de cada una de las fracciones + *Fusarium oxysporum* en comparación a la lectura a cero horas (antes de incubarse), tomando a consideración que una disminución de absorbancia esta relacionada a una disminución del crecimiento del hongo y un aumento de absorbancia indica que hay crecimiento del hongo como se puede observar de los valores del testigo (*Fusarium oxysporum* con solo medio RPMI sin fracción).

Al hacer el análisis de comparación de medias de las lecturas se observa que la que tuvo un mayor efecto de disminución en comparación con el testigo fue la F22 con el -0.067078 y la F23 con -0.06972 menos absorbancia que es 7.5 veces menos crecimiento en comparación con el testigo, es seguido por la F35, F26, F31, F12 y la F25 a un rango de disminución de -0.05217 a -0.04654, lo que significa que tuvo 5 veces menos de crecimiento que el testigo; a su vez los otros oscilan entre -0.04483 a -0.03089 como son la F27 y F13 todo esto en comparación con el testigo que tuvo 0.00950 de absorbancia media de la interacción de las fracciones a las tres concentraciones y los tres tiempos ya mencionados.

Cuadro 2.- Promedio de lecturas de Absorbancia a 24, 48 y 72 h de las 29 fracciones de extracto etanólico de *F. cernua* a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm sobre *F. oxysporum*.

Fracciones	Medias*	Tukey	Veces X**
F36	0.05785	A	6.1
F46	0.03041	BA	3.2
F47	0.02622	BC	2.8
F40	0.02470	BC	2.6
F39	0.02324	BC	2.4
F37	0.01983	BC	2.1
F33	0.01678	BCD	1.8
F51	0.01635	BCD	1.7
F45	0.01276	BECD	1.3
F49	0.01220	FBECD	1.3
F44	0.01185	FBECD	1.2
Testigo	0.00950	FBECD	1.0
F48	0.00804	FBECD	0.8
F38	0.00532	FBECD	0.6
F34	0.00217	FBECD	0.2
F29	0.00120	FBECD	0.1
F30	-0.00102	FECD	-0.1
F42	-0.01206	FEGD	-1.3
F32	-0.01559	FHGE	-1.6
F41	-0.01717	FHGI	-1.8
F13	-0.03089	HJGI	-3.3
F24	-0.03748	HJGI	-3.9
F27	-0.04483	HJKI	-4.7
F25	-0.04654	JKI	-4.9
F12	-0.04761	JKI	-5.0
F31	-0.04976	JKI	-5.2
F26	-0.05028	JKI	-5.3
F35	-0.05217	JKI	-5.5
F23	-0.06972	LK	-7.3
F22	-0.07078	LK	-7.5

*Tukey (≥ 0.05) factorial A x B x C. Media total de concentraciones (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

** Veces X= Medias de fracciones / Testigo.

También podemos observar en este mismo cuadro que hay fracciones con números positivos; es decir, no afectaron el crecimiento del hongo. La F36 que presenta el mayor aumento de absorbancia no tuvo efecto sobre *F. oxysporum*, como se aprecia que pasó todo lo contrario la cual tuvo un crecimiento de 0.05785 de incremento de absorbancia que es igual a 6.1 veces más en comparación con el testigo. A su vez, las demás fracciones con números positivo no tuvieron un efecto fungistático, esto se debe tal vez a los tipos de solventes que se utilizaron en el momento de la separación en cromatografía de columna de las fracciones del extracto etanólico de *F. cernua*; que al mezclar a una alta proporción el hexano con el acetato de etilo no extraen compuestos que afecten al hongo, y que a una proporción de acetato de etilo mayor que la de hexano de acuerdo con los valores obtenidos extraen más compuesto que afectan al hongo, y tiene un efecto muy aceptable en cuanto a la disminución de absorbancia (crecimiento de *F. oxysporum*), pero en cuanto a la mezcla de acetato de etilo con metanol no hubo en la mayoría de las fracciones compuestos que impidan el crecimiento del hongo, y no tuvieron efecto sobre *F. oxysporum*, estos datos de diferencia de absorbancia de fracciones con respecto a la absorbancia del testigo son la mayoría de los números que están en positivo.

Así mismo, en el cuadro 3 se aprecia con más claridad que el comportamiento de las tres concentraciones es diferente estadísticamente entre ellas; de manera general, conforme se va aumentando la concentración el efecto del extracto es mejor.

Cuadro 3.- Promedio de lecturas de absorbancia de concentraciones de las fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* D. C. sobre *F. oxysporum* a 24, 48 y 72 h.

Concentración	Media*	Tukey
500	0.00596	A
1000	-0.01406	B
2000	-0.02793	C

* Tukey (≥ 0.05) (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

En el cuadro 4 se aprecia de una manera general, que en diferentes tiempos la interacción de las 29 fracciones las tres concentraciones tienen el mismo efecto estadístico.

Cuadro 4.- Promedio de las lecturas de absorbancia a través del tiempo de las fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* D. C. a 500, 1000 y 2000 ppm.

Tiempo	Media*	Tukey
24	-0.01018	A
48	-0.01281	A
72	-0.01303	A

* Tukey (≥ 0.05) (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

Efecto de Fracciones a Tres Concentraciones sobre *F. oxysporum* a 24 h de Incubación.

En el cuadro 5 se puede apreciar la interacción de las tres concentraciones a 24 h, al ser analizadas estadísticamente las 29 fracciones se nota que tuvieron diferentes efectos de incremento o disminución de absorbancia sobre *F. oxysporum*. La que tuvo un mayor efecto de disminución de absorbancia es la Fracción 22 con un valor de -0.06756 menor absorbancia que es igual a 16.1 veces menos absorbancia que el testigo que tuvo el 0.0042 que es igual a 1 vez de crecimiento. Seguido por otras fracciones como las F23, F27, F12, F31 y F25 que oscilan entre valores de -0.06061 a -0.04250 menos de absorbancia, lo que significa que inhibe de 14.4 a 10.1 veces en comparación con el testigo; a su vez también podemos mencionar las F13, F30 y F26, que tuvo el -0.003439 a -0.02600 menos de absorbancia lo que es igual a 8.2 a 6.2 veces que el testigo, por lo que podemos decir que al utilizar una alta proporción de acetato de etilo y una baja proporción de hexano se obtiene un efecto de inhibición de *F. oxysporum*.

En el mismo cuadro se observa que otras fracciones presentan números positivos, es decir, no afectaron el crecimiento del hongo, entre estos se encuentra la F36; fracción que no tuvo efecto de inhibición sobre *F. oxysporum*, y que por el contrario el hongo creció 16.9 veces más que el testigo. Esto se debe tal vez a los tipos de solventes que se utilizaron en el momento de la separación en cromatografía de columna del extracto etanólico de *F. cernua*; en donde al mezclar una alta proporción de hexano con acetato de etilo no afectó al hongo.

Cuadro 5.- Promedio de lectura de absorbancia a 24 h por fracciones; de las 3 concentraciones (500, 1000 y 2000ppm).

FRACC	Media*	Tukey	Veces X**
F36	0.07089	A	16.9
F37	0.02983	BA	7.1
F46	0.02750	BA	6.5
F40	0.02728	BA	6.5
F38	0.02694	BAC	6.4
F39	0.02544	BC	6.1
F47	0.01628	BDC	3.9
F33	0.01461	BDC	3.5
F48	0.01378	BDC	3.3
F49	0.01044	BEDC	2.5
F51	0.00928	BEDC	2.2
F29	0.00667	BEDC	1.6
F44	0.00589	BEDC	1.4
F45	0.00494	BEDC	1.2
Testigo	0.00420	FBDEC	1.0
F32	0.00411	FBDEC	1.0
F34	-0.00550	FBDECG	-1.3
F41	-0.00983	FBDECG	-2.3
F42	-0.01817	FHEDCG	-4.3
F26	-0.02600	FHEDIG	-6.2
F30	-0.02850	FHEDIG	-6.8
F13	-0.03439	FHEIG	-8.2
F24	-0.04078	FHJIG	-9.7
F35	-0.04089	FHJIG	-9.7
F25	-0.04250	HJIG	-10.1
F31	-0.04378	HJIG	-10.4
F12	-0.04761	HJIG	-11.3
F27	-0.04817	HJIG	-11.5
F23	-0.06061	HJIG	-14.4
F22	-0.06756	JI	-16.1

* Tukey (≥ 0.05) Media total de concentraciones. (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

** Veces X= Medias de fraciones / Testigo

Este hecho no se presenta en la mezcla de acetato de etilo + metanol ya que la mayor proporción de acetato de etilo en esta mezcla no reflejó un mejor efecto sobre *F. oxysporum*; Excepto la fracción F35 que entre una proporción de 10:5 (acetato de etilo + metanol).

En el cuadro 6 podemos observar que las medias de las lecturas de absorbancia son diferentes estadísticamente para las tres concentraciones estudiadas; a mayor concentración menos absorbancia esto es menor aumento fungosa.

Cuadro 6.- Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm), a 24 h.

Concentración	Media*	Tukey
500	0.00311	A
1000	-0.01087	B
2000	-0.02279	C

* Tukey (≥ 0.05) (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

Efecto de Fracciones a Tres Concentraciones Sobre *F. oxysporum* a 48 h de incubación.

En el cuadro 7 se pueden notar los resultados analizados a las 48 h, el efecto de las fracciones del extracto etanólico del hojasén es diferente entre ellas. La que tuvo el mejor efecto de inhibición sobre *F. oxysporum* fueron la F22 con el -0.06906

de absorbancia; lo que es igual a -6.8 veces, la F35 el -0.06761 menos de absorbancia que es -6.6 veces y la F23 con -0.06683 menos de absorbancia que inhibe -6.6 veces el crecimiento del hongo en comparación con el testigo que tuvo 0.0095 de absorbancia; estas 3 fracciones fueron las que tuvieron un mejor efecto de inhibición sobre este hongo. Sin embargo, como las fracciones F31 y la F12 con valores que oscilan entre -0.0517 y -0.05167 menos de absorbancia (-5.4 y -5.1 veces de inhibición sobre el crecimiento de *F. oxysporum* comparado con el testigo) también presentan resultados estadísticamente similares a las anteriores.

Las medias de las fracciones con números positivo no tuvieron efecto sobre *F. oxysporum*, siendo las F36 la que tuvo un crecimiento de 0.04433 mas de absorbancia que es igual a 4.3 veces de incremento de su crecimiento en comparación con el testigo.

Por último, en el cuadro 8 se representan las medias de absorbancia de las 3 concentraciones a las 48 h; estas presentan un efecto diferente estadísticamente entre sí, siendo la concentración a 2000 ppm la que obtuvo el mejor efecto en la inhibición de *F. oxysporum*.

Cuadro 7.- Promedio de lectura de absorbancia a 48 h por fracciones; de las 3 concentraciones (500, 1000 y 2000ppm).

FRACC	Media*	Tukey	Veces X**
F36	0.04433	A	4.3
F37	0.04200	A	4.1
F33	0.02894	BA	2.8
F40	0.02856	BA	2.8
F47	0.02850	BA	2.8
F39	0.02672	BA	2.6
F46	0.02450	BA	2.4
F51	0.01733	BAC	1.7
F49	0.01372	BAC	1.3
F45	0.01156	BDAC	1.1
Testigo	0.01020	EBDAC	1.0
F44	0.00856	EBDAC	0.8
F29	0.00333	EBDAC	0.3
F34	0.00194	EBDACF	0.2
F38	0.00167	EBDACF	0.2
F48	0.00100	EBDACF	0.1
F30	-0.00172	EBDAGCF	-0.2
F42	-0.01200	EBDAGCF	-1.2
F41	-0.02383	EIDHGCF	-2.3
F32	-0.02461	EIDHGCF	-2.4
F13	-0.03433	EIDHGF	-3.4
F24	-0.03639	EIHGF	-3.6
F27	-0.04500	IHGJF	-4.4
F26	-0.04689	IHGJ	-4.6
F25	-0.04733	IHGJ	-4.6
F12	-0.05167	IHJ	-5.1
F31	-0.05517	IHJ	-5.4
F23	-0.06683	IJ	-6.6
F35	-0.06761	IJ	-6.6
F22	-0.06906	IJ	-6.8

* Tukey (≥ 0.05) Media total de concentraciones (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

** Veces X= Medias de fracciones / Testigo.

Cuadro 8.- Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm) a 48 h.

Conc	Media*	Tukey
500	0.00484	A
1000	-0.01385	B
2000	-0.02942	C

* Tukey (≥ 0.05) (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

Efecto de Fracciones a Tres Concentraciones Sobre *F. oxysporum* a 72 h de Incubación.

En el cuadro 9 se muestran los resultados de las fracciones a las 72 h contra *F. oxysporum*. Los resultados indican que la fracción 23 es la que tuvo mejor efecto con menos absorbancia sobre este hongo, con -0.08022 menos de absorbancia, lo que es igual a -5.7 veces de inhibición, en comparación con el testigo que tuvo 0.01400 de absorbancia. También podemos señalar que las fracciones F26 y la F22 tienen un efecto de inhibición muy aceptable que oscila entre -0.07794 y -0.07572 que es igual a -5.6 y -5.4 veces de inhibición comparado con el testigo y estadísticamente similar a la F23.

Por último cabe mencionar también las medias de las fracciones con números positivos, de las cuales no hubo efecto de inhibición sobre *F. oxysporum*, de estos se encuentra la F36 que tuvo un crecimiento favorable de 0.05833 mas de absorbancia que es igual a 4.2 veces de crecimiento mas que el testigo.

Cuadro 9.- Promedio de lectura de absorbancia a 72 h por fracciones; de las 3 concentraciones (500, 1000 y 2000ppm).

FRACC	Media*	Tukey	Veces X**
F36	0.05833	A	4.2
F46	0.03922	BA	2.8
F47	0.03389	BAC	2.4
F30	0.02717	BAC	1.9
F51	0.02244	BDAC	1.6
F45	0.02178	BDAC	1.6
F44	0.02111	BDAC	1.5
F40	0.01828	EBDAC	1.3
F39	0.01756	EBDACF	1.3
Testigo	0.01400	EBDAGCF	1.0
F49	0.01244	EBDAGCF	0.9
F34	0.01006	EBDHAGCF	0.7
F48	0.00933	EBDHAGCF	0.7
F33	0.00678	EBDHAGCF	0.5
F42	-0.00600	EBDHGCF	-0.4
F29	-0.00639	EBDHGCF	-0.5
F37	-0.01233	EBDHGCF	-0.9
F38	-0.01267	EBDHGCF	-0.9
F41	-0.01783	EBDHIGCF	-1.3
F13	-0.02394	EJDHIGCF	-1.7
F32	-0.02628	EJDHIGCF	-1.9
F24	-0.03528	EJDHIGF	-2.5
F27	-0.04133	EJHIGF	-3.0
F12	-0.04356	JHIGF	-3.1
F35	-0.04800	JHIG	-3.4
F25	-0.04978	JHI	-3.6
F31	-0.05033	JHI	-3.6
F22	-0.07572	JI	-5.4
F26	-0.07794	JI	-5.6
F23	-0.08022	J	-5.7

* Tukey (≥ 0.05) Media total de concentraciones. (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

** Veces X= Medias de fracciones / Testigo.

En el cuadro 10 se muestra el resultado de absorbancia a 72 h de las concentraciones de las fracciones, en donde se aprecia diferencia estadísticamente estas; a mayor concentración se obtiene menor absorbancia.

Cuadro 10.- Promedio de las lecturas de absorbancia de las tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm), a 72 h.

Conc	Media*	Tukey
500	0.00993	A
1000	-0.01745	B
2000	-0.03157	C

* Tukey (≥ 0.05) (Valor con la misma letra no son estadísticamente significativas).

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados obtenidos muestran que las fracciones del extracto etanólico de hojaseén tienen poder de disminución del crecimiento del hongo *F. oxysporum*. De las diferentes fracciones, la mayor disminución de absorbancia por efecto de las fracciones se dio a las 24 horas con 16.1 veces menos absorbancia que el testigo, con un valor de disminución de absorbancia de -0.06756 por efecto de la F22, seguida estadísticamente por la F23 con 14.4 veces menos de absorbancia que el testigo. Se confirma que estas fracciones tuvieron el mayor efecto sobre el hongo, dado que en la comparación de medias de los valores de absorbancia de la interacción de las fracciones a tres concentraciones y tres tiempos la mayor disminución de absorbancia con respecto al testigo la presentó la F22 y F23 con 16.1 veces y 14.4 menos que el testigo, respectivamente.

A través de los diferentes tiempos analizados estadísticamente se observó que va disminuyendo el efecto de las fracciones del extracto etanólico sobre *Fusarium oxysporum*, conforme pasa el tiempo, ya que las fracciones pierden poder fungistático; esta puede ser debido a la evaporación, ya que también es volátil. Al efectuar la mezcla de los solventes de hexano y acetato de etilo se observa que a mayor proporción de acetato de etilo que de hexano se tiene un mejor efecto sobre *F. oxysporum*, pero no así con la mezcla de acetato de etilo con metanol, donde no se observó un efecto favorable en la inhibición del hongo, excepto en la fracción F35 que tiene un efecto aceptable sobre *F. oxysporum*.

También podemos mencionar que conforme se van aumentando las concentraciones, el efecto de las fracciones cromatográficas del extracto etanólico es mejor, y que al pasar los días se observa una menor inhibición del hongo obteniéndose a las 72 h la más baja inhibición sobre *F. oxysporum*.

Estudios realizados con extractos crudos de *F. microphyla*, *F. cernua* y *F. retinophyllia*, muestran una inhibición en el crecimiento micelial de los hongos *Alternaria* sp. *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, en función de las concentraciones empleadas (Jasso et al., 2005). Los mismos autores enlistan que el efecto de inhibición fue observado desde 10 ppm para las 3 especies de *Flourensia*; aunque la inhibición total se obtuvo a 1 500 ppm.

Así mismo, estudios realizados con extractos de *Flourensia cernua* obtenidos por Soxhlet, muestran un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Rhizoctonia solani* desde dosis de 4 000 a 20 000 ppm; con lo que se logró inhibir hasta 86.2 % y 84.7 % con el extracto metanólico de *F. cernua* a 20 000 ppm a las 48 y 96 h, respectivamente. El efecto fungistático de este patógeno se conservó hasta las 96 h (Gamboa, 2002).

En estudios preliminares al presente trabajo se observó que extractos crudos de *F. cernua* obtenidos con cuatro solventes manifestaron efecto fungistático de seis hongos, entre ellos *F. oxysporum*, todos los extractos provocaron inhibición de los hongos, aunque el extracto etanólico mostró más de 82 % de inhibición desde 500 ppm (Solís-Gaona et al., 2005).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que fue desarrollado este trabajo, podemos concluir que:

De las 64 fracciones obtenidas se seleccionaron las que tuvieron mejor rendimiento de resina que fueron 29 fracciones y las fracciones que tuvieron el mayor rendimiento son las de la mezcla de hexano + acetato de etilo con proporción (2:8).

De las 29 fracciones del extracto etanólico de *F. cernua* evaluadas sobre *Fusarium oxysporum*, no todas ejercen un efecto inhibitorio del crecimiento de *F. oxysporum*.

Las fracciones que presentaron el mejor efecto sobre *Fusarium oxysporum* fueron la F22 y la F23, las cuales fueron eluidas con solventes de hexano + acetato de etilo con una mayor proporción de acetato de etilo que hexano (3:7).

A medida que se aumentó la concentración de las fracciones se obtuvieron mejores resultados sobre *Fusarium oxysporum*.

Las fracciones no tuvieron el mismo efecto en los diferentes tiempos; conforme pasa el tiempo el efecto sobre el hongo se disminuye.

La mezcla de acetato de etilo con metanol no tiene efecto sobre el hongo de las proporciones usadas en este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2001. Fitopatología. Ed Noriega. México. 838 p.
- Alexopolus, C. J; Blackwell, M. and Mins, C. W. 1996. Introductory Mycology United States of America. 632 p.
- Arredondo, V. D. G. 1981. Componentes de la vegetación del rancho demostrativo Los Ángeles. Tesis Licenciatura UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México 284 p.
- Bautista, S. B; Hernández, L. M. y Barbosa, N. L. L. 2000. Antifungicad screening of plants of the state Morelos, México against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. Revista Mexicana de Fitopatología. 18:36-41.
- Benson, L. and R. A. Darrow, 1981. Tress and shrubs of the south western desert. The University of Arizona Press. Tucson Arizona, USA. 416 p.
- Blake, C. A. 1913. Revision of the genus *Flourensia*. Proc. Amer. Acad. 49: 393-409.
- Bravo, L. L; K. Bermúdez, T. y Montes, B. R. 1998. Inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium moniliforme*, mediante aceites esenciales vegetales y algunos de sus componentes químicos. Revista Mexicana de fitopatología. 16: 18-23.
- Lester, W. B.; Liddell, C. M y Summerell, B. A. 1988. Laboratory Manual for *Fusarium* Research: Incorporating a Key and descriptions of common species in Australasia. 2nd Ed. Department of Plant Pathology and agricultural Entomology the University of Sidney, May 1988. pp 100-101.
- CICOPLAFEST. 1994. Catálogos Oficial de Plaguicidas. Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas fertilizantes y sustancias tóxicas. SARH. México. 242 p.
- Correl, D.S. and Johnston M.C. 1970. Manual of the vascular plants of Texas. Texas Research Fundation. Ranner, Texas, USA. 1881 p.
- Dillon, M. D. 1976. Two species of *Flourensia* (Asteracea) From North Central México. The South Western. 21: 145-149.
- Fraire S. R; Montes, B. R. y Pérez, P. R. 1993. Efectos de extractos vegetales en el desarrollo del tizón tardío *Phytophthora infestans* en jitomate.

- Memorias del XX Congreso Nacional de Fitopatología. Zacatecas, Zacatecas. 52 p.
- Galván, C. A, 2005, Actividad Biológica de hojasén (*F. cernua*) sobre *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium oxysporum* Schelchi y *Phytophthora capsici* Leo. Tesis Maestría. UAAAN. Saltillo, Coah. Mex. 47 p.
- Gamboa, A. R. 1997. Evaluación de extractos vegetales sobre la pudrición de la raíz y corona (*F. oxysporum* f sp *lycopersici*) y los efectos fisiológicos en tomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis de licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 93 p.
- Gamboa, A. R. 2002. Efectividad biológica de plantas de semidesierto sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*. Tesis maestría. UAAAN. Saltillo, Coah. Mex. 56 p.
- Garza, G. L. 1996. Fitopatología general. Ed. Universidad Autónoma de Nuevo León. 513 p.
- 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.
- Gonzales, 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.
- 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, Buenavista, 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.
- Jasso D. R.; Hernandez, C. D.; Angulo, S. J. L.; Rodriguez, G. R. and Villarreal, Q. J. A. 2005. Antifungal *in vitro* of *Flourensia* spp. Extract on *Alternaria* sp. (Rh) and *Fusarium oxysporum*. Industrial Crops and rural Development. Proceeding of 2005 Annual Meeting of the Association for the Advancement of Industrial Crops. Murcia, Spain. pp. 427-437.
- Lira, H. S. 2001. Uso de extractos vegetales en la agricultura. Centro de investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coah. Mex. 26 p.

- López E. R. y Sánchez, A. A. 1988. Evaluación de extractos de crucíferas sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* *in vitro*. Memorias de XV Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Veracruz, México. 107 p.
- Mata, R. Linares, E.; Macias, M. R.; Pérez, O. y Timermann, B. N. 2003. Phytotoxic Compounds of *Flourensia cernua*. *Phytochemistry*. 64:285-295.
- Mendoza, Z. C. y Pinto, C. B. 1983. Principios de Fitopatología y Enfermedades causadas por hongos, Universidad Autónoma de Chapingo. 311 p.
- Mendoza, Z. C. 1993. Diagnostico de Enfermedades Fungosas. Universidad Autónoma de Chapingo. 166 p.
- Montes, B. R. 2000. Evaluación de las plantas antifúngicas y su potencial a la fitosanidad. Memorias del VI Simposio Nacional Sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de las Plagas. Acapulco, Guerrero, México. pp 111-115
- Nuño, N. D. 1997. Cromatografía de capa. 1ra Edición. Internacional Científica S: A. I. Q. 255p.
- Rundel, P. W.; Rosul, S. M. and Gonzalez, 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.
- Salazar H. F. J.; García, E. R. y Tlapal, B. B. 1991. Efecto de la incorporación de residuos secos de las plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*) y epazote (*Chenopodium ambrosoides*) en suelos infestados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. *Revista mexicana de Fitopatología*. 9: 102-104.
- Silva, S. R. E. 1980. Estado actual de los recursos naturales renovables de los ejidos el Predo y San Juan del Predo, Municipio de Galeana Nuevo León, México. Tesis licenciatura. UANL. Monterrey, N. L., México. 75 p.
- Solís, G.S., Guerrero-Rodríguez, E., Galván-Cendejas, A., Jasso-Cantú, D., Hernández-Castillo, F.D., 2005. Actividad biológica de extractos de Hojasén (*Flourensia cernua*) sobre los patógenos del suelo *Fusarium oxysporum*, *Rhyzoctonia solani* y *Phytophthora capsici*. Memorias XXXII Congreso Nacional de Fitopatología. VII Congreso internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen, C-43.
- Takayuki, S. y Leonard, F. B. 1993. Introducción a la toxicología de los alimentos. Ed Acribia. España. 203 p.

- Tellez, M. E.; Fredrickson, R. E.; Powell, J. W.; Schrader, K. D. y Kobaisy, M. 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L): volatile constituents and antifungal, antialgal, and antitermite bioactivities. *Journal Chem Ecol.* 27(11): 2263-73.
- Vines, R. A. 1960. *Trees, shrubs and woody vines of the Southwest.* University of Texas Press. Ed. United States of America. 1104 p.
- Wilson, C. L.; Ahmed, E. G. y Michel, E. W. 1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticides. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 17: 49-53

APENDICE

A continuación se presentan las lecturas de absorbancia tomadas a las 24, 48 y 72 h, a las concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm, como se presentan:

Cuadro A.1.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 24 horas (100 μ l de RPMI 1640 + 90 μ l de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 μ l de fracciones a 10,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.04	-0.06	-0.05	-0.07	-0.11	-0.10
F13	-0.07	-0.09	-0.07	-0.11	-0.05	-0.07
F22	-0.08	-0.07	-0.06	-0.08	-0.07	-0.09
F23	-0.14	-0.10	-0.06	-0.05	-0.09	-0.05
F24	0.03	-0.04	0.01	-0.03	-0.02	-0.02
F25	0.17	0.13	0.13	0.04	0.06	0.10
F26	0.04	0.05	0.00	-0.01	0.01	0.05
F27	0.08	-0.03	-0.01	-0.03	-0.07	-0.05
F29	0.17	0.08	0.12	0.07	0.15	0.04
F30	0.01	0.10	0.06	0.02	-0.03	0.24
F31	-0.05	-0.11	-0.09	-0.07	-0.11	-0.09
F32	0.00	-0.01	0.01	-0.02	-0.04	-0.04
F33	0.01	-0.02	-0.02	0.00	0.01	0.00
F34	-0.04	-0.02	-0.04	-0.04	-0.02	-0.05
F35	0.01	0.04	0.00	-0.02	-0.01	0.05
F36	0.22	0.23	0.03	0.19	0.19	0.23
F37	-0.04	0.03	-0.02	0.04	0.03	0.04
F38	0.03	0.05	0.04	0.05	0.05	0.06
F39	-0.02	0.02	0.03	0.04	0.02	0.01
F40	0.01	0.02	0.01	0.01	0.03	0.00
F41	0.00	-0.01	0.00	0.00	0.04	-0.03
F42	0.01	-0.01	0.01	-0.01	-0.03	-0.03
F44	-0.01	0.05	0.03	0.02	0.01	0.01
F45	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00
F46	0.01	0.04	0.01	0.06	0.04	0.04
F47	0.01	0.05	0.05	0.00	0.00	-0.05
F48	-0.04	0.03	0.01	0.03	0.04	0.00
F49	0.02	0.02	-0.02	0.02	0.02	0.01
F51	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.02
T	0.0042	0.0046	0.0038	0.0047	0.0034	0.0047

Cuadro A.2.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 48 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 10,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.07	-0.06	-0.05	-0.07	-0.10	-0.11
F13	-0.06	-0.08	-0.06	-0.11	-0.04	-0.07
F22	-0.08	-0.07	-0.05	-0.09	-0.07	-0.09
F23	-0.03	-0.11	-0.08	-0.07	-0.09	-0.04
F24	0.02	-0.04	0.00	-0.04	-0.03	-0.03
F25	0.16	0.12	0.12	0.04	0.06	0.10
F26	0.03	0.02	0.00	-0.01	-0.01	0.04
F27	0.07	-0.04	-0.02	-0.03	-0.08	-0.07
F29	0.17	0.08	0.12	0.08	0.15	0.05
F30	0.10	0.15	0.09	0.05	-0.01	0.32
F31	-0.06	-0.10	-0.06	-0.08	-0.09	-0.06
F32	-0.02	-0.04	-0.01	-0.05	-0.06	-0.07
F33	0.04	0.04	0.03	0.05	0.05	0.02
F34	0.01	0.00	-0.02	0.00	0.02	-0.01
F35	-0.05	-0.05	-0.06	-0.11	-0.07	-0.03
F36	0.17	0.15	-0.03	0.13	0.12	0.17
F37	-0.02	0.05	0.02	0.06	0.05	0.05
F38	-0.02	0.01	-0.01	0.01	0.01	0.00
F39	-0.02	0.03	0.04	0.04	0.03	0.00
F40	0.02	0.03	0.03	0.01	0.04	0.00
F41	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	-0.01
F42	0.03	0.00	0.00	-0.01	0.05	-0.02
F44	0.02	0.08	0.04	0.05	0.04	0.04
F45	0.02	0.03	0.04	0.03	0.02	0.01
F46	0.02	0.04	0.00	0.06	0.04	0.04
F47	0.02	0.07	0.07	0.06	0.00	-0.03
F48	-0.05	0.02	-0.01	0.00	0.01	-0.02
F49	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.03
F51	0.03	0.03	0.04	0.02	0.02	0.03
T	0.0100	0.0110	0.0100	0.0090	0.0100	0.0110

Cuadro A.3.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 500 ppm y testigo a 72 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 10,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.04	-0.06	-0.04	-0.07	-0.10	-0.10
F13	-0.05	-0.07	-0.05	-0.09	-0.03	-0.07
F22	-0.09	-0.07	-0.06	-0.09	-0.08	-0.11
F23	-0.05	-0.11	-0.10	-0.07	-0.09	-0.05
F24	0.03	-0.04	-0.01	-0.04	-0.03	-0.03
F25	0.16	0.13	0.11	0.03	0.05	0.09
F26	0.03	0.02	-0.02	-0.03	-0.03	0.01
F27	0.08	-0.03	-0.01	-0.03	-0.07	-0.06
F29	0.17	0.09	0.12	0.08	0.14	0.04
F30	0.15	0.20	0.13	0.10	0.03	0.36
F31	0.08	-0.07	-0.04	-0.09	-0.06	0.07
F32	0.00	-0.02	-0.03	-0.04	-0.05	-0.07
F33	-0.04	-0.07	-0.07	-0.04	-0.04	-0.05
F34	-0.06	-0.06	-0.09	0.21	-0.05	-0.10
F35	0.01	0.04	-0.01	-0.04	0.00	0.05
F36	0.22	0.22	-0.03	0.15	0.17	0.23
F37	-0.03	0.02	-0.02	0.03	0.01	0.02
F38	0.01	0.04	0.01	0.04	0.03	0.04
F39	-0.01	0.00	0.02	0.02	0.02	0.04
F40	0.02	0.04	0.03	0.02	0.03	0.01
F41	0.03	0.01	0.02	0.01	0.03	0.00
F42	0.03	0.01	-0.01	0.00	0.06	-0.01
F44	0.01	0.09	0.05	0.05	0.03	0.01
F45	0.02	0.03	0.04	0.02	0.04	0.02
F46	0.04	0.07	0.04	0.09	0.08	0.06
F47	0.02	0.08	0.08	0.07	0.00	-0.04
F48	-0.05	0.05	0.03	0.03	0.05	0.00
F49	0.03	0.01	0.00	0.02	0.04	0.03
F51	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02
T	0.0140	0.0160	0.0140	0.0100	0.0170	0.0130

Cuadro A.4.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 24 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.03	-0.05	-0.02	-0.01	-0.06	-0.10
F13	-0.05	-0.06	0.00	-0.05	-0.01	-0.04
F22	-0.02	-0.10	-0.06	-0.04	-0.03	-0.02
F23	-0.08	-0.13	-0.08	-0.09	-0.10	-0.09
F24	-0.06	-0.08	-0.01	-0.08	-0.01	-0.02
F25	0.05	0.01	0.01	-0.04	-0.07	-0.07
F26	-0.10	-0.14	-0.14	-0.15	-0.08	-0.11
F27	-0.12	-0.07	-0.02	0.01	-0.05	-0.09
F29	0.09	-0.02	0.01	0.02	0.04	0.00
F30	-0.10	-0.06	-0.08	-0.03	-0.15	0.08
F31	0.00	-0.10	0.00	-0.07	-0.03	-0.05
F32	0.05	0.01	0.03	0.00	0.02	-0.02
F33	0.03	0.03	0.02	0.02	0.04	0.03
F34	0.02	0.02	-0.04	0.00	0.00	0.02
F35	-0.05	-0.05	-0.03	-0.10	-0.06	-0.04
F36	0.21	0.15	-0.03	0.12	0.09	0.12
F37	0.01	0.07	0.01	0.09	0.08	0.01
F38	0.00	0.02	0.01	0.07	0.02	0.05
F39	-0.02	0.02	0.05	0.04	0.02	0.03
F40	0.02	0.03	0.02	0.01	0.04	0.01
F41	-0.01	-0.02	-0.01	-0.01	0.02	-0.03
F42	0.01	-0.02	0.00	0.00	-0.03	-0.03
F44	-0.01	0.05	0.03	0.02	0.00	-0.01
F45	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
F46	0.02	0.04	-0.01	0.06	0.05	0.02
F47	0.02	0.05	0.03	0.00	-0.01	-0.03
F48	-0.03	0.05	0.03	0.03	0.01	0.03
F49	0.01	0.00	0.00	0.02	0.02	0.01
F51	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00
T	0.0042	0.0046	0.0038	0.0047	0.0034	0.0047

Cuadro A.5.- Valores de de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 48 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.05	-0.05	-0.01	-0.01	-0.07	-0.10
F13	-0.05	-0.06	0.00	-0.05	0.01	-0.04
F22	-0.02	-0.10	-0.05	-0.04	-0.03	-0.02
F23	-0.09	-0.16	-0.10	-0.12	-0.12	-0.09
F24	-0.05	-0.06	0.00	-0.08	0.01	-0.02
F25	0.05	0.00	0.00	-0.06	-0.08	-0.08
F26	-0.13	-0.16	-0.16	-0.17	-0.10	-0.14
F27	-0.11	-0.06	-0.01	0.01	-0.04	-0.08
F29	0.08	-0.03	0.00	0.01	0.05	-0.02
F30	-0.02	-0.02	-0.05	0.00	-0.13	0.15
F31	-0.04	-0.12	-0.03	-0.14	-0.07	-0.04
F32	0.01	-0.05	-0.01	-0.06	-0.04	-0.09
F33	0.03	0.04	0.02	0.04	0.05	0.04
F34	0.02	0.01	-0.06	0.02	-0.01	0.02
F35	-0.06	-0.06	-0.04	-0.12	-0.06	-0.04
F36	0.20	0.13	-0.06	0.11	0.07	0.11
F37	0.01	0.08	0.07	0.10	0.09	0.00
F38	-0.01	0.02	0.01	0.01	-0.02	-0.01
F39	-0.01	0.01	0.06	0.04	0.03	0.02
F40	0.02	0.03	0.04	0.01	0.05	0.00
F41	0.00	-0.01	-0.02	-0.02	0.00	0.00
F42	0.01	-0.02	-0.01	-0.01	0.03	-0.02
F44	-0.01	0.05	0.01	0.02	0.00	-0.01
F45	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.00
F46	0.04	0.06	0.00	0.06	0.05	0.02
F47	0.01	0.07	0.04	0.05	-0.01	-0.04
F48	-0.03	0.04	0.02	0.03	0.01	-0.02
F49	0.01	0.01	0.00	0.01	0.03	0.01
F51	0.01	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01
T	0.010	0.011	0.010	0.009	0.010	0.011

Cuadro A.6.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 1000 ppm y testigo a 72 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 20,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.02	-0.04	-0.01	-0.01	-0.06	-0.09
F13	-0.04	-0.05	0.02	-0.04	0.02	-0.03
F22	-0.03	-0.10	-0.06	-0.05	-0.04	-0.03
F23	-0.11	-0.16	-0.11	-0.14	-0.14	-0.12
F24	-0.04	-0.06	0.00	-0.08	0.00	-0.02
F25	0.04	-0.01	0.00	-0.06	-0.09	-0.08
F26	-0.18	-0.20	-0.22	-0.21	-0.14	-0.19
F27	-0.12	-0.05	-0.01	0.02	-0.04	-0.08
F29	0.06	-0.03	-0.02	-0.01	0.05	-0.03
F30	0.03	0.04	0.00	0.05	-0.07	0.20
F31	0.03	-0.13	-0.06	-0.16	-0.09	0.07
F32	-0.01	-0.06	-0.06	-0.07	-0.06	-0.10
F33	0.03	0.06	0.04	0.06	0.05	0.05
F34	-0.03	-0.19	-0.05	0.29	-0.08	0.03
F35	-0.07	-0.05	-0.05	-0.12	-0.07	-0.05
F36	0.20	0.15	-0.07	0.09	0.08	0.13
F37	-0.12	-0.07	-0.10	-0.03	-0.06	-0.12
F38	-0.01	0.01	-0.02	0.01	-0.03	-0.02
F39	-0.03	-0.03	0.02	0.01	0.02	0.01
F40	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	-0.01
F41	0.02	-0.01	-0.02	-0.01	-0.02	0.00
F42	0.02	-0.01	0.00	-0.01	0.05	-0.01
F44	0.01	0.09	0.04	0.05	0.00	-0.02
F45	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03	0.01
F46	0.05	0.07	0.02	0.07	0.06	0.03
F47	-0.01	0.08	0.05	0.08	-0.01	-0.03
F48	-0.04	0.04	0.03	0.03	0.01	0.01
F49	-0.01	0.02	-0.01	0.03	0.02	0.02
F51	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02
T	0.0140	0.0160	0.0140	0.0100	0.0170	0.0130

Cuadro A.7.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 24 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 40,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.02	-0.01	-0.03	-0.01	-0.02	-0.05
F13	0.03	0.00	0.00	0.01	0.00	-0.01
F22	-0.12	-0.06	-0.07	-0.08	-0.10	-0.08
F23	0.00	-0.05	0.00	0.01	-0.02	0.01
F24	-0.03	-0.08	-0.06	-0.10	-0.06	-0.07
F25	-0.21	-0.23	-0.22	-0.21	-0.17	-0.26
F26	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.04
F27	-0.05	-0.10	-0.08	-0.06	-0.08	-0.05
F29	0.00	-0.05	-0.27	-0.19	0.05	-0.18
F30	-0.18	-0.08	-0.12	-0.07	-0.21	0.09
F31	0.05	-0.03	-0.04	0.01	0.00	-0.02
F32	0.02	0.01	0.04	0.01	-0.01	0.01
F33	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.03
F34	0.02	0.02	0.01	0.00	0.02	0.03
F35	-0.04	-0.08	-0.09	-0.09	-0.16	-0.04
F36	-0.06	-0.04	-0.22	0.06	-0.12	-0.05
F37	-0.01	0.03	0.00	0.07	0.01	0.07
F38	-0.01	0.03	0.00	0.03	0.02	-0.02
F39	-0.02	0.05	0.05	0.05	0.07	0.05
F40	0.02	0.02	0.06	0.07	0.08	0.03
F41	0.00	-0.07	-0.01	-0.03	0.02	-0.03
F42	-0.02	-0.04	-0.03	-0.04	-0.06	-0.02
F44	-0.03	0.02	-0.01	-0.01	-0.01	-0.05
F45	-0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	-0.01
F46	0.01	0.03	0.01	0.03	0.03	0.01
F47	0.03	0.06	0.06	0.02	0.00	0.00
F48	-0.02	0.04	0.00	0.03	0.04	-0.02
F49	0.02	0.00	0.00	0.02	0.01	0.01
F51	0.00	0.02	0.02	0.00	0.01	0.00
T	0.0042	0.0046	0.0038	0.0047	0.0034	0.0047

Cuadro A.8.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 48 horas (100 µl de RPMI 1640 + 90 µl de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 µl de fracciones a 40,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.05	-0.01	-0.02	-0.01	-0.03	-0.06
F13	0.03	0.00	-0.01	0.01	-0.01	-0.02
F22	-0.12	-0.06	-0.07	-0.09	-0.10	-0.09
F23	0.02	-0.05	-0.02	-0.01	-0.03	-0.01
F24	-0.03	-0.07	-0.05	-0.09	-0.05	-0.05
F25	-0.21	-0.22	-0.21	-0.21	-0.17	-0.25
F26	-0.01	0.00	-0.02	-0.02	-0.03	0.03
F27	-0.04	-0.09	-0.07	-0.04	-0.07	-0.04
F29	-0.03	-0.07	-0.18	-0.21	0.01	-0.20
F30	-0.14	-0.10	-0.15	-0.09	-0.25	0.07
F31	0.08	-0.03	-0.02	-0.04	-0.03	-0.08
F32	0.02	-0.01	0.05	-0.01	-0.02	0.01
F33	0.01	0.02	-0.03	0.03	0.01	0.02
F34	-0.03	0.01	0.00	-0.01	0.02	0.03
F35	-0.04	-0.08	-0.06	-0.09	-0.15	-0.04
F36	-0.06	-0.05	-0.24	0.05	-0.13	-0.06
F37	0.00	0.02	0.01	0.09	0.02	0.07
F38	-0.05	0.03	-0.02	0.02	0.02	0.02
F39	-0.02	0.05	0.04	0.06	0.08	0.04
F40	0.00	0.02	0.08	0.08	0.09	-0.02
F41	-0.09	-0.12	-0.05	-0.03	-0.05	-0.05
F42	0.00	-0.08	-0.06	-0.07	-0.02	-0.02
F44	-0.05	0.03	-0.04	-0.05	-0.02	-0.05
F45	-0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
F46	0.01	0.00	-0.01	0.03	0.01	-0.01
F47	0.02	0.08	0.07	0.06	0.00	-0.01
F48	-0.04	0.04	-0.01	0.03	0.03	-0.02
F49	0.01	-0.02	-0.02	0.01	-0.02	-0.01
F51	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01
T	0.010	0.011	0.010	0.009	0.010	0.011

Cuadro A.9.- Valores de disminución ó incremento de absorbancia (545-630 nm) de las 29 fracciones a 2000 ppm y testigo a 72 horas (100 μ l de RPMI 1640 + 90 μ l de *F. oxysporum* a 10,000 conidios/ml en RPMI + 10 μ l de fracciones a 40,000 ppm).

Fracc	R1	R2	R3	R4	R5	R6
F12	-0.03	-0.01	-0.02	-0.01	-0.02	-0.06
F13	0.04	0.00	0.00	0.03	0.00	-0.01
F22	-0.13	-0.07	-0.08	-0.10	-0.10	-0.09
F23	-0.01	-0.06	-0.04	-0.03	-0.05	-0.03
F24	-0.02	-0.07	-0.06	-0.09	-0.05	-0.06
F25	-0.20	-0.22	-0.22	-0.21	-0.16	-0.25
F26	-0.04	-0.04	-0.05	-0.06	-0.05	-0.02
F27	-0.04	-0.09	-0.07	-0.04	-0.06	-0.04
F29	-0.05	-0.08	-0.20	-0.23	0.01	-0.22
F30	-0.16	-0.11	-0.16	-0.11	-0.27	0.09
F31	0.08	-0.10	-0.07	-0.13	-0.10	-0.14
F32	0.03	0.01	0.01	0.01	-0.01	0.03
F33	0.03	-0.01	-0.01	0.04	0.05	0.04
F34	-0.02	0.03	0.01	0.28	0.04	0.02
F35	-0.05	-0.08	-0.10	-0.10	-0.16	-0.03
F36	-0.06	-0.03	-0.26	0.05	-0.13	-0.03
F37	0.02	0.04	0.02	0.05	0.02	0.09
F38	-0.10	-0.06	-0.11	0.03	0.01	-0.09
F39	-0.02	0.01	0.04	0.06	0.06	0.08
F40	-0.06	0.00	0.11	0.03	0.10	-0.04
F41	-0.08	-0.11	-0.07	-0.03	-0.07	-0.03
F42	0.01	-0.06	-0.07	-0.06	-0.01	-0.03
F44	-0.03	0.06	-0.02	-0.01	0.00	-0.03
F45	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02
F46	0.01	0.00	-0.01	0.03	0.00	-0.01
F47	0.02	0.08	0.08	0.08	-0.01	-0.02
F48	-0.06	0.04	-0.01	0.02	0.03	-0.04
F49	0.02	-0.02	-0.02	0.03	0.00	0.00
F51	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02
T	0.014	0.016	0.014	0.010	0.017	0.013