

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EVALUACIÓN *IN VITRO* DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Proboscidea parviflora* W. (MARTYNIACEAE) y *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) SOBRE FITOPATÓGENOS DE AGUACATE.

Tesis

Que presenta ANTONIO OROZCO PLANCARTE

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Junio 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO




EVALUACIÓN *IN VITRO* DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Proboscidea parviflora* W. (MARTYNIACEAE) y *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) SOBRE FITOPATÓGENOS DE AGUACATE.

Tesis

Que presenta ANTONIO OROZCO PLANCARTE

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA


Dra. Yisa María Ochoa Fuentes


Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz

Saltillo, Coahuila

Junio 2017


EVALUACIÓN *IN VITRO* DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Proboscidea parviflora* W. (MARTYNIACEAE) y *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) SOBRE FITOPATÓGENOS DE AGUACATE.

Tesis

Elaborada por ANTONIO OROZCO PLANCARTE como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría:


Dra. Yisa Maria Ochoa Fuentes

Asesor Principal


Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor


Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz

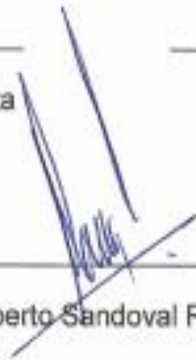
Asesor


Dr. Omegaer Hernández Bautista

Asesor


M.C. Mariana Beltrán Beache

Asesor


Dr. Alberto Sandoval Rangel

Subdirector de Postgrado

UAAAN

Agradecimientos

Doy gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente con pensamientos positivos, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que me han brindado su apoyo y compañía durante toda mi estancia profesional.

Al CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por el apoyo económico a través de la beca durante el postgrado.

A la empresa CULTA S.A. de C.V., por el apoyo para el desarrollo del proyecto de investigación.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes por todo el apoyo que me ha brindado, por sus consejos para ser una mejor persona profesional, además de todos los conocimientos, amistad que me han servido para buscar nuevas alternativas, solucionar problemas y sobre todo para ser una mejor persona ética y profesional, además de sus asesoramientos y facilidades prestadas para la realización de la presente tesis. Así también por depositar su confianza y comprensión en mí para la realización de este proyecto.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez por la amistad que me brindo durante todo este tiempo, por la confianza que ha depositado en mí para participar en sus proyectos de investigación, inculcándome nuevos retos y conocimientos para ser un buen profesionalista, gracias por la ayuda incondicional en todo momento.

Al Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz y al M.C. Mariana Beltrán Beahé por el apoyo, comprensión y confianza durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Omegar Hernández Bautista por todo el apoyo incondicional durante el desarrollo del proyecto.

Dedicatoria

A mis padres:

Antonio Orozco Crescencio (†) y Angélica Plancarte Estrada

Por todo el cariño, amor, confianza, que me han brindado, por todas esas palabras llenas de sabiduría que me han llevado por el buen camino, por la educación y los valores que me inculcaron desde niño, gracias por estar conmigo siempre en todo momento.

A mi esposa Orlanda Antonio del Ángel por ser una gran amiga, compañera, por apoyarme en los momentos de alegría, en los momentos difíciles y tristes que la vida me ha puesto a prueba, pero sobre todo por darme la dicha de ser padre de tres hermosas niñas (Yoletzy Orozco Antonio, Andrea Orozco Antonio y Ximena Orozco Antonio) por alegrarme los días.

Y a toda mi familia por todo su apoyo que me han brindado siempre, y me han guiado por el camino del bien, por todos los consejos, momentos de felicidad, pero sobre todo por formar parte de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	iv
Dedicatoria	v
Lista de tablas	viii
Lista de figuras.....	ix
Resumen.....	x
Abstract.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general.....	3
Objetivo específico.....	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Historia y origen del aguacate	4
Clasificación taxonómica	4
Valor nutricional	5
Importancia económica y social del aguacate	5
Producción mundial de aguacate.....	6
Producción nacional de aguacate.....	6
Principales enfermedades presentes en el aguacate	7
Tristeza del aguacatero (<i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands).....	7
Antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>)	8
Roña del fruto (<i>Sphaceloma perseae</i> Jenkins).....	10
Generalidades de los Oomycetos.....	11
<i>Pythium</i> sp.....	12
<i>Phytophthora</i> sp.	12
<i>Phytophytium</i> sp.....	13
Manejo de enfermedades en el cultivo de aguacate.....	14
Extractos vegetales.....	14
Tipos de extractos.....	15
Generalidades de <i>Proboscidea parviflora</i> W.....	16
Generalidades de <i>Phaseolus lunatus</i> L.	17

MATERIALES Y MÉTODOS	18
Ubicación de la investigación	18
Recolecta de muestras de plantas.....	18
Establecimiento y cultivo de <i>P. lunatus</i> en el invernadero	18
Fitopatogenos evaluados.....	19
Etapa experimental 1: Elaboración de extractos vegetales crudos.....	20
Material vegetal	20
Desinfección del material vegetal	20
Preparación de los extractos vegetales	21
Concentración, obtención y almacenamiento de extractos crudos	22
Etapa experimental 2: Evaluación de extractos crudos	23
Determinación de concentraciones inhibitorias	23
Pruebas de efectividad biológica	24
Cálculo de los tiempos letales de inhibición	24
Determinación de compuestos de extractos.....	24
Análisis estadísticos	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
Etapa experimental 1: Elaboración de extractos vegetales crudos.....	26
Etapa experimental 2: Evaluación de extractos crudos	26
Determinación de concentraciones inhibitorias.....	26
Pruebas de efectividad biológica	31
Cálculo de tiempos letales de inhibición	36
Determinación de compuestos de extractos vegetales	38
CONCLUSIONES	42
LITERATURA CITADA.....	43
ANEXOS	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Partes de plantas utilizadas para la elaboración de extractos.....	20
Tabla 2. Elaboración de extractos vegetales de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L.....	26
Tabla 3. Efecto inhibitorio (%) de crecimiento de micelio de <i>P. amazonianum</i> , <i>P. vexans</i> y <i>P. cinnamomi</i> R. por extractos vegetales de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L.	27
Tabla 4. Concentraciones inhibitorias (Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90}) de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. sobre el crecimiento de micelio de <i>P. amazonianum</i> , <i>P. vexans</i> y <i>P. cinnamomi</i> R.....	29
Tabla 5. Efecto inhibitorio (%) de <i>P. amazonianum</i> por extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. a 120 h.....	32
Tabla 6. Efecto inhibitorio (%) de <i>P. vexans</i> por extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. a 120 h.....	34
Tabla 7. Efecto inhibitorio (%) de <i>P. cinnamomi</i> R. por extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. a 216 h.....	35
Tabla 8. Tiempo letal medio (TL_{50}) de inhibición de <i>P. amazonianum</i> bajo la influencia de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L.....	37
Tabla 9. Tiempo letal medio (TL_{50}) de inhibición de <i>P. vexans</i> bajo la influencia de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L.	37
Tabla 10. Tiempo letal medio (TL_{50}) de inhibición de <i>P. cinnamomi</i> R. bajo la influencia de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L.	38
Tabla 11. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto H.V.v.P.p a modo positivo	39
Tabla 12. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto H.V.v.P.p a modo negativo	40
Tabla 13. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto F.A.S.P.I a modo positivo	41
Tabla 14. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto F.A.S.P.I a modo negativo	42
Tabla 15. Denominaciones para los extractos de acuerdo al solvente utilizado.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol con síntomas de la tristeza del aguacatero.....	8
Figura 2. Diferentes partes de plantas de aguacate con síntomas de antracnosis.	9
Figura 3. Frutos de aguacate dañados por roña	11
Figura 4. Establecimiento y cultivo de <i>P. lunatus</i> en invernadero	19
Figura 5. Cepas puras de los fitopatogenos evaluados.	19
Figura 6. Muestras de partes de <i>P. parviflora</i> W. separadas y desinfectadas.	21
Figura 7. Preparación de extractos de <i>P. parviflora</i> W.	22
Figura 8. Concentración y obtención de extractos crudos	22
Figura 9. Regresión Probit de inhibición de crecimiento de micelio de <i>P. amazonianum</i> bajo los efectos de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L....	30
Figura 10. Regresión Probit de inhibición de crecimiento de micelio de <i>P. amazonianum</i> , <i>P. cinnamomi</i> R. y <i>P. vexans</i> bajo los efectos de los extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L..	31
Figura 11. Comportamiento inhibitorio (%) de <i>P. amazonianum</i> por extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. cada 24 h hasta 120 h	33
Figura 12. Comportamiento inhibitorio (%) de <i>P. vexans</i> por extractos de <i>P. parviflora</i> W. y <i>P. lunatus</i> L. cada 24 h hasta 120 h	34
Figura 13. Comportamiento inhibitorio (%) de <i>P. cinnamomi</i> R. por extractos de <i>P. parviflora</i> W y <i>P. lunatus</i> L. cada 24 h hasta 216 h	36
Figura 14. Cromatograma de muestra de extracto H.V.v.P.p a modo positivo	38
Figura 15. Cromatograma de muestra de extracto H.V.v.P.p a modo negativo	39
Figura 16. Cromatograma de muestra de extracto F.A.S.P.I a modo positivo	40
Figura 17. Cromatograma de muestra de extracto F.A.S.P.I a modo negativo	41

Resumen

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Proboscidea parviflora* W. (MARTYNIACEAE) y *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) SOBRE FITOPATÓGENOS DE AGUACATE.

POR:

ANTONIO OROZCO PLANCARTE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

La tristeza del aguacatero es una enfermedad causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, actualmente han asociado a *Pythium amazonianum* como otro agente causal de esta enfermedad, el control de esta enfermedad es con funguicidas sintéticos, eliminando microorganismos benéficos, contaminando el medio ambiente y generando problemas de resistencia a estos productos en los fitopatógenos. Por lo que la presente investigación tiene como propósito el desarrollo de una alternativa de manejo mediante el uso de extractos vegetales de *Proboscidea parviflora* W. y *Phaseolus lunatus* L. que controlen el desarrollo de micelio de *P. amazonianum* en condiciones *in vitro*. Los extractos crudos fueron elaborados en el Laboratorio de Toxicología de la UAAAN, así mismo se determinaron los porcentajes de inhibición, las concentraciones inhibitorias y los tiempos letales de inhibición, utilizando la metodología de medio envenenado donde se evaluaron varias concentraciones de los extractos. Obteniendo como resultados que los extractos de ambas plantas presentan control, inhibiendo el desarrollo de micelio, sobresaliendo los extractos de *P. lunatus* por inhibir a concentraciones menores que los extractos de *P. parviflora*.

Palabras clave: Extractos, *Pythium amazonianum*, *Proboscidea parviflora* W. y *Phaseolus lunatus* L.

Abstract

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE EXTRACTOS VEGETALES DE *Proboscidea parviflora* W. (MARTYNIACEAE) y *Phaseolus lunatus* L. (FABACEAE) SOBRE FITOPATÓGENOS DE AGUACATE.

BY:

ANTONIO OROZCO PLANCARTE

MASTER IN SCIENCE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Avocado 'Tristeza' is a disease caused by *Phytophthora cinnamomi* Rands. Recently this disease has been associated to *Pythium amazonianum*, considered another causal agent. Avocado "Tristeza" is being currently controlled with synthetic fungicides that kill beneficial microorganisms, pollute the environment and lead to resistance problems in plant pathogens. The current research work is aiming to provide a management alternative using extracts from *Proboscidea parviflora* W. and *Phaseolus lunatus* L. to control the development of mycelia in *P. amazonianum* in vitro. Raw extracts were prepared at UAAAN's Toxicology Laboratory determining the inhibition percentages, inhibition concentrations and inhibition lethal times. The poisoned food technique methodology was used to assess several concentrations of hereinabove mentioned plant extracts, showing that both extracts control and inhibit mycelial development, in particular *P. lutatus*, which inhibits mycelial growth at lower concentrations than *P. parviflora* extracts.

Key words: Extracts, *Pythium amazonianum*, *Proboscidea parviflora* (W.) and *Phaseolus lunatus* (L.)

INTRODUCCIÓN

México es el principal productor y consumidor de aguacate (*Persea americana* Mill.), a nivel nacional cuenta con una superficie sembrada de 203,732 ha con una producción anual de 1, 878,599 ton. Los estados con mayor producción son: Michoacán, Jalisco, Estado de México y Nayarit (SIAP, 2016). Dentro de las enfermedades del cultivo, la tristeza del aguacatero provocada por *Phytophthora cinnamomi* Rands es la principal enfermedad a nivel mundial (Téliz y Mora, 2007). Además de tener más de mil especies de plantas hospederas (Hardhman, 2005).

Hernández *et al.* (2016), reportan por primera vez a *Pythium amazonianum* = *Phytophytium sp. amazonianum* como agente causal de la tristeza del aguacate en Peribán, Michoacán, México. Sin embargo De Cock *et al.* (2015), describen a *Phytopytium mirpurense* como una entidad separada filogenéticamente de *Pythium* y *Phytophthora*, caracterizándola por pruebas moleculares y morfológicas por ser el único en tener oogonios papilados, internamente proliferados, cilíndricos o anteridios lobulados, asociándolo a la enfermedad.

La necesidad de los productores por manejar esta problemática, los ha conducido a la búsqueda de alternativas de manejo, debido al bajo control que presenta el uso de productos fungicidas sintéticos, acudiendo a múltiples aplicaciones que pueden acarrear diferentes problemas, entre los que destacan la toxicidad en humanos (Whalen *et al.*, 2003; Paulitz y Bélanger, 2001), detenciones de exportaciones por residuos en productos, daños al medio ambiente (Ramírez y Jacobo, 2002) y efecto en fauna benéfica (Anderson *et al.*, 2003).

Así mismo, los fitopatógenos podrían desarrollar resistencia a ingredientes activos de fungicidas sintéticos, ocasionando problemas de eficiencia (Chapagain *et al.* 2007), haciendo uso de altas dosis y buscando nuevos agroquímicos para sustituir los que han mostrado resistencia en hongos (Bajwa *et al.*, 2003). Debido a los problemas que presenta el uso indiscriminado de los fungicidas sintéticos, es necesario desarrollar alternativas naturales para el control de enfermedades; una de estas

estrategias es el uso de extractos vegetales; ya que por ser de origen orgánico, son biodegradables sin perjudicar la salud humana y el ambiente (Bravo *et al.*, 2000). Por su parte Maselli *et al.* (2006), mencionan que el uso de los extractos es una alternativa para el manejo integrado de los cultivos, debido a su bajo costo, señalan que pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos.

Por otra parte Tequida *et al.* (2002), menciona que los extractos etanolicos y metanolicos de *Proboscidea parviflora* W., poseen efectos fungicida inhibiendo el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansus*, *Fusarium poae* y *Fusarium moniliforme*, hasta el momento no se sabe que metabolitos están presentes para esta especie. Mientras tanto Asai *et al.* (2011), menciona que *Proboscidea lousiana* contiene un 47% de triterpenos y 38% de glucosiloxi-acidos grasos.

En la especie de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Torres (2010), menciona que en esta especie se han encontrado fitoalexinas que son metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, de bajo peso molecular de naturaleza química diversa; terpenoides, alcaloides, glucósidos y flavonoides entre otros, su función radica en la protección frente al ataque de patógenos, contribuyendo directamente en el control de bacterias y hongos fitopatógenos.

De tal manera, que en la presente investigación se consideraron aspectos para buscar una alternativa de manejo utilizando insumos de menor impacto ambiental, pero con alta efectividad, para integrarla a las prácticas del manejo de *Pythium amazonianum*, *Phytophythium vexans* y *Phytophthora cinnamomi* R.

Objetivo general

La presente investigación tiene como objetivo elaborar y evaluar extractos vegetales para el control de fitopatógenos de aguacate.

Objetivos específicos

Elaborar y concentrar extractos (acuosos, hexánicos y etanólicos) de *P. parviflora* y *P. lunatus*.

Evaluar los extractos crudos sobre *P. cinnamomi*, *P. amazonianum* y *P. vexans* en condiciones *in vitro*.

Hipótesis

Los extractos de *P. lunatus* y *P. parviflora*, mostraran efecto inhibitorio superior al 65% en los diferentes fitopatógenos causantes de la tristeza del aguacatero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia y origen del aguacate

El aguacate *Persea americana* Mill., que proviene del náhuatl (Ahuacatl) que significa “testículos del árbol”, es un árbol originario de América, teniendo como lugar de origen la parte centro de México y en algunas partes altas de Guatemala en donde se cultivaba desde antes de la llegada de los españoles (SFA-SAGARPA, 2011). Evidencias arqueológicas indican que el aguacate era consumido por los pueblos nativos hace 10,000 años y su cultivo se habría iniciado hace 6,000 años (Sanchez, 1999).

Actualmente se identifican tres razas de aguacate: la Mexicana, la Guatemalteca y la Antillana (SFA-SAGARPA, 2011), mientras que otros investigadores como Bergh y Ellstrand, (1986) realizaron una clasificación de las variedades botánicas, ubicando la raza Mexicana como *Persea americana* var. *drymifolia*, la raza Antillana como *P. americana* y la raza Guatemalteca como *P. americana* var. *guatemalensis*.

Clasificación taxonómica

Clase: Dicotiledóneas

Subclase: Diapétales

Orden: Ranales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea*

Especie: *P. americana* Mill.

Valor nutricional

La amplia aceptación y preferencia del aguacate puede deberse a sus cualidades gustativas, su amplio uso en estado fresco o elaborado en múltiples formas y su relativo aporte de vitaminas y minerales. Por cada 100 g de pulpa contienen: calorías (150 a 300 cal), hidratos de carbono (2.9 a 7.6 g), proteínas (1.2 a 2.1 g), grasa (6.1 a 21.2 g), agua (68 a 86%) y fibra (0.7 a 2.1 g). Es importante mencionar que la pulpa y el aceite son reducidos en ácidos grasos saturados y ricos en monoinsaturados, aproximadamente 96% de ellos es ácido oleico. Posee vitaminas A, D, E, K, B1, B2, B6, niacina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico y vitamina C. Minerales como calcio, hierro, fósforo, sodio, potasio, magnesio, manganeso, cobre, azufre y cloro (Bergh, 1992; Frias, 1994; Maldonado *et al.*, 2007), por lo que se puede afirmar que se ubica entre las frutas más completas.

Importancia económica y social del aguacate

La producción de aguacate a nivel nacional, cuenta con una superficie sembrada de 203,732 ha con una producción anual de 1, 878,599 ton las cuales se exportan a diferentes países como Estados Unidos, Canadá, Europa y Japón obteniendo ingresos de 1,270 millones de dólares anuales, lo que genera más de 300 mil empleos, los estados con mayor producción son: Michoacán, Jalisco, Estado de México y Nayarit (SAGARPA, 2015; SIAP, 2016).

En México hay varias clases de aguacate como Hass siendo la más popular en el mercado internacional y con gran aceptación por los consumidores debido a su sabor peculiar a nuez y avellana, le sigue la clase Fuerte, Criollo, Bacón, Pinkerton, Gwen y Reed. Debido al consumo existen varios procesos para la conservación de la pulpa del fruto de aguacate por lo que el método que ha dado mejores resultados es el congelamiento (-18 °C) de la pulpa, mediante el cual se elaboran productos como salsas, condimentos para alimentos como papas y galletas saladas sin olvidar el

guacamole que tiene la mayor aceptación por los consumidores a nivel mundial (SFA-SAGARPA, 2011).

El consumo nacional de aguacate es sensible a cambios en el precio, por lo que se ha visto afectado por variaciones importantes. De la producción nacional, 69% se destina al consumo en fresco, 19% para la industria y 12% a exportación. Se reporta un consumo per cápita anual de 10 kg, que lo ubica como el país donde se presenta el mayor consumo de esta fruta (BANCOMEXT, 2010 citado por Arriaga, 2013).

Producción mundial de aguacate

Hasta el año 2014, la superficie sembrada a nivel mundial fue 547,849 ha con una producción total de 5,028,756 ton, siendo América el que presenta mayor porcentaje (68.8 %) seguido de África con un 15.9 %, por otra parte 10 países concentraron el 100 % de la producción mundial; la posición líder la ocupa México con una producción de 1,335,182.4 ton, seguido por República Dominicana con 337,924.6 ton, Perú con 278,331.6 ton, posteriormente Indonesia, Colombia, Estados Unidos, Kenia, Chile, Brasil y Rwanda (FAOSTAT, 2014).

Producción nacional de aguacate

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera México es el principal productor y consumidor de aguacate contando con una superficie sembrada de 203,732 ha con una producción anual de 1,878,599 ton. Los estados con mayor producción son: Michoacán, Jalisco, Estado de México y Nayarit (SIAP, 2016). Los principales estados productores de aguacate en México son: Michoacán (147,720 ha), Jalisco (17,812 ha), Estado de México (9,434 ha), Nayarit (5,446 ha), Guerrero (4,468 ha), Morelos (4,233 ha), Chiapas (3,294 ha), Puebla (3,286 ha) y Oaxaca (2,599 ha), (SIAP, 2016).

Principales enfermedades presentes en el aguacate

Las enfermedades principales que atacan al cultivo son la tristeza del aguacatero causada por *Phytophthora cinnamomi* R. (Téliz y Mora, 2007), antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides*) (Oliveira *et al.*, 2005) y roña del fruto (*Sphaceloma perseae* Jenkins) (Coria, 2009).

Tristeza del aguacatero (*Phytophthora cinnamomi* R.)

Es una enfermedad causada por *Phytophthora cinnamomi* R., descubierta por Rands en 1922 en Sumatra aislándola de árboles de canela *Cinnamomun burmanii*, siendo el patógeno más importante en arboles forestales, pero también es destructivo en plantas ornamentales leñosas (Rododendros y otras Ericaceas) y en huertos de cultivo de aguacate (Robin *et al.*, 2012). Esta enfermedad es una de las más destructivas del árbol de aguacate (Zentmyer, 1980). Por su parte Alexopoulos (1996), menciona que este fitopatógeno tiene compatibilidad sexual con dos grupos A1 y A2. El grupo A2 es más patogénico, presentando mayor agresividad en cultivos agrícolas (Zentmyer, 1980).

Los síntomas que presenta esta enfermedad en el árbol son: muerte descendente, clorosis en el follaje, defoliación de ramas, pudrición de raíces, las raíces quebradizas y de color café oscuro (SFA-SAGARPA, 2011 y Ochoa, 2006). Por su parte Coria (2009), menciona que la enfermedad puede atacar árboles en cualquier edad, observando decaimiento general de la parte aérea, clorosis progresiva en toda el área foliar, el árbol produce una gran cantidad de frutos pequeños que son abortados antes de llegar a su madurez y con el avance de la enfermedad ocurre la defoliación y el árbol muere.



Figura 1. Árbol con síntomas de la tristeza del aguacatero

Fuente: Ochoa (2006) y Coria (2009).

En México, se ha encontrado en zonas productoras de aguacate de Michoacán, Puebla, Chiapas, Veracruz, Nayarit y Morelos (Téliz *et al.*, 1992). Por otro lado Ochoa *et al.* (2009), detectaron a *P. cinnamomi* R., en cinco municipios del estado de Michoacán (Peribán, Tancítaro, San Juan Nuevo, Salvador Escalante y Uruapan) demostrando que *P. cinnamomi* presenta variabilidad genética en esa región productora.

Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides*)

Es una enfermedad causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporoides* Penz en el fruto de aguacate, esta enfermedad es de mayor importancia ya que ocasiona pérdidas económicas cercanas al 20% de la producción (Rodríguez *et al.*, 2009) durante el almacenaje y comercialización (Freeman *et al.*, 1995), manifestándose con la aparición de manchas circulares color café oscuro en el pericarpio lo que ocasiona ablandamientos y pudrición de la pulpa o mesocarpo (Prusky *et al.*, 2001 y Yakoby *et al.*, 2000).

La antracnosis se presenta en diversas partes del aguacatero (Agrios, 1988); cuando infecta frutos en desarrollo se le denomina como “viruela” presentando al inicio manchas circulares translúcidas redondas, que posteriormente cambian a café oscuro y pueden ser numerosas; cuando se presenta en frutos maduros se le

denomina “clavo”, observando lesiones negras hundidas, circulares o irregulares (Zamora *et al.*, 2001) (Figura 2, A, B y C), en las hojas se manifiesta como manchas de color café con un halo clorótico y puede provocar defoliación si la incidencia es alta (Figura 2, E); en las flores aparece como tizón y provoca la caída o aborto de fruto (Figura 2, D); en las ramas se observan manchas circulares color café o púrpura que rápidamente se necrosan (Morales y Ángel, 2007; Téliz y Mora, 2007).



Figura 2. Diferentes partes de plantas de aguacate con síntomas de antracnosis
Fuente: Barocio (2016).

En cultivo *in vitro* el patógeno presenta colonias con abundante micelio blanco al principio en el medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar), cambiando a grisáceas u oscuras conforme transcurre el tiempo, con masas de esporas o conidios color rosado a salmón en el centro de la colonia, conidios cilíndricos, con extremos obtusos a redondeados, hialinos, sin septos y uninucleados (Sutton, 1992; Freeman *et al.*, 1998; Afanador *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2005). Las condiciones para que ocurra infección por el hongo varía entre los 20 y 28°C, pero su temperatura óptima de crecimiento es de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ (Freeman *et al.*, 1995) y con humedad relativa de 80 a 100% (Prusky *et al.*, 2001; Talhinhos *et al.*, 2005; Yakoby *et al.*, 2002). Con un pH óptimo de crecimiento del hongo de 5.5 a 7 (Drori *et al.*, 2003; Prusky *et al.*, 2001; Villanueva *et al.*, 2004).

Roña del fruto (*Sphaceloma perseae* Jenkins)

Es una enfermedad de gran importancia debido al daño que ocasiona en fruto en postcosecha ya que hace que el precio de la fruta cosechada se reduzca hasta un 50%, además de ser endémica por estar presente en las zonas productoras de aguacate manifestándose año tras año, por lo que si no se realiza un control adecuado, la enfermedad se disemina rápidamente, estimándose que en algunas huertas presentan incidencias de 30 a un 40% y en casos extremos hasta más del 70% (Coria, 2009). Afectando a todas las variedades de aguacate establecidas en México, reportando que las variedades más susceptibles son la “Fuerte” y “Hass” (Vidales, 1994).

Por otra parte, a nivel mundial la enfermedad está presente en México, Estados Unidos, Argentina, Brasil, Haití, Perú, Cuba, Guatemala, Jamaica, Puerto Rico, Colombia y África, por lo que en México ha sido registrada en zonas aguacateras de los estados de Michoacán, Guanajuato, Puebla, Querétaro, Estado de México, Morelos, Nayarit, Tamaulipas y Jalisco (Coria, 2009; Ochoa *et al.*, 2009; Tamayo, 2007).

Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son alta humedad relativa (80-100%) en el ambiente con precipitaciones abundantes y temperaturas de 22 a 26°C, por otra parte el ataque de especies de insectos como los trips (Thysanoptera) se relacionan de forma directa ya que al alimentarse ocasionan heridas en las hojas y frutos lo cual son puntos de entrada del patógeno (Tamayo, 2007; Téliz, 2000; Coria, 2009).

Por lo que Ploetz *et al.* (1994), menciona que los frutos jóvenes y hojas tiernas son más susceptibles mientras que los maduros son más resistentes. Los síntomas que presenta; en fruto son lesiones irregulares de color café rojizo y de apariencia corchosa (SFA-SAGARPA, 2011), las hojas y ramas pueden presentar agrietamientos, en las hojas atacadas se observan pequeñas manchas individuales de color café oscuro de menos de 3 mm de diámetro, cuando el ataque es severo se

distorsionan las nervaduras y se deforman las hojas (Vidales y Anguiano, 1994; Téliz, 2000).



Figura 3. Frutos de aguacate dañados por roña

Fuente: Barocio (2016).

Generalidades de los Oomicetos

Los oomicetos conocidos como “mohos acuáticos” comprenden un grupo de cientos de organismos incluyendo patógenos muy devastadores de cultivos de importancia económica agrícola (William y Niklaus, 2010). Las principales enfermedades que causan este grupo de organismos son el tizón tardío de la papa, mildiú vellosos en vid, damping-off, pudriciones de raíces, la tristeza del aguacatero, muerte súbita del roble y la pudrición de la raíz y tallo de la soya entre otras, sin embargo este grupo de organismos no está relacionado con los hongos verdaderos, existiendo muchas características que diferencian a los oomicetos de los hongos por ejemplo; no presentan septos en las hifas resultado de una condición multinucleada (llamada cenositica), los núcleos de las células vegetativas son diploides, la pared celular se compone de β -1,3 y β -1,6 glucanos y no de quitina (el polímero de N-acetil glucosamina, que se encuentra en las paredes de los hongos verdaderos). Muchas especies producen esporas acuáticas (zoosporas) carentes de pared celular, biflageladas contenidas en estructuras llamadas esporangios (William y Niklaus, 2010).

***Pythium* sp.**

Este género presenta más de 120 especies, que se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo, viviendo como saprofitos sobre restos de plantas así como patógenos en plantas de importancia agrícola (Dick, 1990). Este género se conoce mejor por causar enfermedades como damping-off y la pudrición de semillas en emergencia y postemergencia, también causan pudrición de raíces en plantas maduras y pudriciones blandas en frutos carnosos (William y Niklaus, 2010).

Por otro lado también lo asocian con una reducción en la vigorosidad de plantas a adultas por provocar daños en raíces pero por lo regular las plantas no mueren (Martin, 2009). Dado a la importancia que tiene el género *Pythium* se han realizado diversos estudios de identificación de las especies causando daños entre las cuales se encuentran: *P. aphanidermatum*, *P. cylindrosporum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. pachycaule*, *P. paroecandrum*, *P. spinosum*, *P. splendens*, *P. sylvaticum*, *P. ultimum* var. *ultimum* y *P. vexans* (Duff, 1993; Tello *et al.*, 1995; Al-Sa'di *et al.*, 2007), en agua de riego se ha identificado *P. dissotocum*, *P. porphyrae*, *P. sulcatum* y *P. torulosum*, (Kong *et al.*, 2004).

Actualmente Hernández *et al.* (2016), asocian a *P. sp. amazonianum* como agente causal de la enfermedad “Tristeza del aguacatero” aislando el patógeno de árboles enfermos en zonas productoras de Michoacán México y realizando pruebas de patogenicidad en plantas de aguacate.

***Phytophthora* sp.**

Este género proviene del griego Phytón: planta; phthora: destructor, fue creado por de Bary en 1876 con *P. infestans* de Bary como especie tipo, también reconoció a dicho patógeno como agente causal del “Tizon tardío de la papa”, en Europa (1840), previamente identificado como *Botrytis infestans* Montagne y luego como *Peronospora infestans* (Montagne) (Ho, 1990).

Las especies de *Phytophthora* causan varias enfermedades en plantas. La mayoría generan pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas y pudriciones de tubérculos, otras causan pudriciones de yema o de frutos y algunos tizones foliares. Algunas especies son específicas al hospedero, pero otras tienen un amplio rango de éstos y pueden producir síntomas similares o distintos en muchos tipos de plantas hospederas. Un hallazgo importante de *P. infestans* causó la hambruna irlandesa de la papa a mediados del siglo 19, debido a su devastador impacto y a las pérdidas económicas que causó (William y Niklaus, 2010).

Actualmente existen varias especies de este género atacando a diferentes tipos de cultivos agronómicos como: Papa (*Phytophthora infestans* “Tizón tardío”), Aguacate (*Phytophthora cinnamomi* “Tristeza del aguacatero”, Chile (*Phytophthora capsici* “Pudrición basal del tallo”) entre otras (William y Niklaus, 2010; Ochoa, 2009; Uribe *et al.*, 2014).

***Phytopythium* sp.**

Este género surge de una combinación entre *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp., ya que en estudios de máxima verosimilitud y análisis filogenético Bayesiano del ADN nuclear ribosomal (LSU y SSU) y citocromo oxidasa mitocondrial subunidad (COI) propuestas por De Cock *et al.* (2014), mencionan que así como las pruebas moleculares como los análisis estadísticos de las distancias por pares que apoyan firmemente el estado de *Phytopythium* como una entidad filogenéticamente separada de *Pythium* y *Phytophthora* y morfológicamente es el único que posee oogonios papilados internamente proliferados, cilíndricos y anteridios lobulados.

Actualmente Hernandez (2016), reporta a *Phytopythium vexans* como agente causal de la tristeza del aguacatero en municipios productores de aguacate en Michoacán, México, comprobando su patogenicidad en plántulas de aguacate con seis hojas verdaderas expresando la sintomatología de la enfermedad similar a *Phytophthora cinnamomi* R., además de reportar mayor tasa de crecimiento por este patógeno y de *Pythium* sp. *amazonianum* que *P. cinnamomi* R.

Manejo de enfermedades en el cultivo de aguacate

Las enfermedades del cultivo del aguacate merman la producción en un 14% y reducen la calidad en un 10%, por lo que esta limitante es de gran importancia por el número, intensidad y como un factor que incrementan los costos de producción (Coria, 2009).

En la actualidad el manejo de las enfermedades que más se ha utilizado es mediante el control químico usando diferentes formulaciones sintéticas o fungicidas ya que integrado con prácticas culturales ha dado mejores resultados (Coria 2009 y Barocio, 2016), sin embargo han ocasionado daños severos a organismos de control biológico (Anderson *et al.*, 2003), generando problemas de resistencia debido a las múltiples aplicaciones (Chapagain *et al.*, 2007), contaminaciones al medio ambiente y por consecuencia daños a la salud humana (Ramírez y Jacobo, 2002; Whalen *et al.*, 2003; Paulitz y Bélanger, 2001).

La necesidad de los productores por manejar esta problemática, los ha conducido a la búsqueda de alternativas de manejo, que sean de bajo costo, menor impacto, sin que dañen el cultivo y el medio ambiente para el control de enfermedades; una de estas estrategias es el uso de extractos vegetales. En la actualidad no se ha trabajado con el uso de estas sustancias para controlar enfermedades en el cultivo del aguacatero, pero presentan una importante oportunidad para su manejo.

Extractos vegetales

Son sustancias de origen vegetal, realizadas con solventes orgánicos, son biodegradables, no perjudican la salud humana y el medio ambiente (Bravo *et al.*, 2000). Maselli *et al.* (2006), mencionan que el uso de extractos es una alternativa para el manejo integrado de enfermedades en los cultivos, debido a su bajo costo, señalan que pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos.

Como evidencia de control con estas sustancias varios investigadores han realizado extractos de diferentes plantas y los han probado contra organismos fitopatógenos como bacterias y hongos; por lo que Briseño *et al.* (2012), elaboraron extractos etanólicos de ruda (*Ruta graveolens* L.) y neem (*Azadirachta indica* Adr. Juss), evaluándolos en el control de bacterias fitopatógenas del genero *Erwinia sp.*

Rangel *et al.* (2001) realizaron y evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos etanolicos, acetónicos y acuosos de *Baccharis nítida* sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Mientras que Tequida *et al.* (2002), menciona que los extractos etanolicos y metanolicos de *Proboscidea parviflora* W., poseen efectos fungicida inhibiendo el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansus*, *Fusarium poae* y *Fusarium moniliforme*.

Tipos de extractos

Los tipos de extractos están muy relacionados al solvente utilizado. La elección del disolvente depende de recursos económicos, parámetros técnicos de los solventes así como la selectividad, estabilidad, inercia química, temperatura de ebullición y seguridad de manipulación, los solventes más usados etanol, hexano, acetona, metanol y agua (Ramírez *et al.*, 2009; Rangel *et al.*, 2001; Nava *et al.*, 2010). De estos solventes se derivan los nombres denominados como extractos: acuosos, etanólicos, acetónicos, hexánicos y metanólicos entre otros.

Generalidades de *Proboscidea parviflora* W

Es una planta herbácea conocida como uña de gato o garra del diablo, considerada como maleza perteneciente a la familia Martyniaceae (Bretting y Nabhan, 1986). Ortega *et al.* (2003), describen el fruto de la uña de gato; mide 2 cm de diámetro y 15 cm de longitud, posee dos cuernos que doblan la longitud de su cuerpo y una cresta angulada de color negro opaco fuertemente tuberculada y verrugosa, el tamaño y forma de la semilla varía dependiendo el acomodo dentro del fruto, también comentan que en los últimos años la planta adquirió más importancia debido a que tiene propiedades alimenticias y medicinales.

Las semillas han sido utilizadas desde hace tiempo por grupos étnicos como alimento y parte del fruto como ornamento de cestería (Sherve and Wiggins, 1964; Felger y Nabhan, 1979). Otros investigadores como Bayles (1979), comento que las semillas poseen un porcentaje de aceite de 40 % y proteínas en 27% con respecto a los aceites comerciales como la soja, maíz, cártamo, olivo, colza y girasol. Mientras que la composición en ácidos grasos es de 52% de ácido linoleico, 34% de oleico y 0.43% de linolénico según (Ortega *et al.*, 1993).

Recientemente la planta de *P. parviflora* se ha utilizado para la obtención de extractos para el control de hongos fitopatógenos y bacterias fitopatógenas. Tequida *et al.* (2002), menciona que los extractos etanolicos y metanolicos de *P. parviflora*, poseen efectos fungicida inhibiendo el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansus*, *Fusarium poae* y *Fusarium moniliforme*, mientras que Sharief y Ali Albala (2015), reportan que los extractos alcohólicos de tallo de *P. parviflora* inhiben el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria spp.*

Generalidades de *Phaseolus lunatus* L

Es una planta cultivada conocida como frijol lima, lb, comba, pallar, haba pallar o frijol mantequilla, es uno de los cinco especies del género *Phaseolus* mas domesticada, cultivada y es la segunda especie que presenta mayor distribución, superficie cultivada y consumo en el mundo (Gutiérrez *et al.*, 1995; Delgado *et al.*, 1999). Hay evidencias que se basan en estudios arqueológicos, morfológico-agronómicos, bioquímicos y moleculares, donde indican que el frijol tiene su centro de origen en la región de Mesoamérica, particularmente en el occidente y sur de México (desde Jalisco hasta Oaxaca) y que hubo dos centros de domesticación: uno primario (Mesoamérica) y otro secundario (Sur Andino). (Hernández *et al.*, 2013).

Por lo que se encuentra en áreas tropicales y subtropicales, cultivada en varios países de América, así como en algunas regiones de Europa, Asia y África. Esta especie contiene una rica fuente de proteínas, carbohidratos, hierro, calcio, fibra, y se distingue por tener bajo contenido de grasas (Martínez, 2015).

En la especie de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Torres (2010), comenta que en esta se han encontrado fitoalexinas que son metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, de bajo peso molecular y de naturaleza química diversa; terpenoides, alcaloides, glucósidos y flavonoides entre otros, su función radica en la protección frente al ataque de patógenos, contribuyendo directamente en el control de bacterias y hongos fitopatógenos.

Las faseolinas son fitoalexinas producidas por el frijol, las cuales son de gran importancia ya que tienen efectos inhibitorios de diferentes fitopatógenos, y se presentan con mayor abundancia en las semillas (García, 2003). Duke's (2017), menciona que *P. lunatus* tiene compuestos como Coumestrol, Daidzein y Genisteina con efecto antimicrobial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la investigación

La presente investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el Departamento de Parasitología en el Laboratorio de Toxicología.

Recolecta de las muestras de plantas

La planta *Proboscidea parviflora* W., fue recolectada en los municipios de Calera y Villa de Cos, Zacatecas, México, en el mes de Diciembre de 2015. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología de la UAAAN para su procesamiento. En el caso de *Phaseolus lunatus* L., la semilla fue adquirida en zonas productoras del municipio de San Miguel Tototolapan, Guerrero, y trasladada al laboratorio de Toxicología de la UAAAN, para ser cultivada en el invernadero de parasitología en el periodo de Enero-Junio 2016.

Establecimiento y cultivo de *Phaseolus lunatus* L. en invernadero

Se procedió a la preparación de dos camas germinadoras de piso, colocando como sustrato tierra de consistencia arcillosa e incorporando residuos de plantas secas como materia orgánica y Peat moss para mejorar la consistencia del sustrato y posteriormente sembrar las semillas de *P. lunatus*, distribuidas de manera lineal a lo largo de la cama germinadora como se muestra en (Figura 4 A y B) posteriormente se aplicó un riego tipo rodado en toda la cama germinadora.

Una vez que germinaron las semillas, se les dio seguimiento con riegos periódicos de tipo rodado cada cinco días asegurando una buena humedad, conforme avanzaba el crecimiento y desarrollo de las plantas se realizaron prácticas culturales como deshierbes y tutorado para que se desarrollaran lo mejor posible, hasta lograr el tamaño deseado para la elaboración de los extractos (Figura 4 C y D).



Figura 4. Establecimiento y cultivo de *Phaseolus lunatus* en invernadero

Fitopatógenos evaluados

Se utilizaron cepas de *Phytophthora cinnamomi* R., *Pythium amazonianum* y *Phytophthora vexans* aisladas, purificadas e identificadas en el laboratorio de Toxicología y proporcionadas por Hernández et al. (2016).



Figura 5. Cepas puras de fitopatógenos evaluados

Etapa experimental 1: Elaboración de extractos vegetales crudos

Material vegetal

Para la elaboración de los extractos se utilizaron las partes de ambas plantas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Partes de plantas utilizadas para la elaboración de los extractos

Planta	Parte de la planta
<i>Proboscidea parviflora</i> W.	Raíz, Tallo, Hojas, Flores y Vainas verdes.
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	Raíz, Tallo, Hojas y Semillas.

Desinfección del material vegetal

Las muestras frescas de cada planta fueron llevadas al laboratorio se procedió a separar por partes por ejemplo para *P. parviflora* W¹., se separaron las partes de raíz², tallo³, hojas⁴, flores⁵ y vainas verdes⁶ (Figura 6), enseguida se cortaron en pequeños trozos, posteriormente se lavó cada muestra con agua de la llave, asimismo se desinfectaron con una solución de cloro al 2% preparando la cantidad de un litro (333.33 mL de cloro en 666.67 mL de agua destilada) por 10 minutos, enseguida se lavaron las muestras con agua destilada dejando escurrir por 5 minutos para finalmente quitar el exceso de agua colocando las muestras sobre papel estraza (Figura 6), lo mismo se realizó para las muestras de plantas de *P. lunatus* L.



Figura 6. Muestras de partes de *P. parviflora* W. separadas y desinfectadas

Preparación de los extractos vegetales

Una vez eliminado el exceso de agua de las muestras, se procedió a la elaboración de los extractos empleando partes de plantas como:(raíz, tallo, hojas, flores, vainas verdes y semillas)¹, utilizando como solvente: Agua destilada estéril, Hexano y Etanol al 96%, pesando 200 g de material vegetal fresco, macerándolo con 200 mL de agua destilada estéril en una licuadora convencional² para el caso de la semilla se pulverizó con un molino de mano, las muestras se suspendieron en 800 mL del solvente obteniendo un volumen final de 1000 mL de preparado³, todos preparados se almacenaron en oscuridad a temperatura ambiente⁴, así mismo, fueron agitados una vez al día durante 30 días, transcurrido el tiempo las muestras fueron filtradas para separar los residuos de la planta utilizando matraces kitasato de 1000 mL, papel filtro normal, embudos buchner y una bomba de vacío⁵, como se muestra en la Figura 7, mismo procedimiento realizado para las muestras de plantas de *P. lunatus* L.



Figura 7. Preparación de extractos de *P. parviflora* W.

Concentración, obtención y almacenamiento de extractos crudos

Después de haber filtrado cada preparado se procedió a concentrar el extracto en un rotavapor (BUCHI R-200 Heating Bath B-490) (Figura 8, A-B), utilizando las siguientes temperaturas: extractos Acuósos a 90°C, Etanólicos a 70°C y Hexánicos a 60°C, para el caso de los extractos “macerados acuósos” y “filtrados acuósos” solo se molieron las muestras y se filtraron, cada extracto crudo se depositó en un contenedor de vidrio de 30 mL de color ámbar (Figura 8, C) y se almacenaron a una temperatura de 4°C en refrigerador para su conservación.



Figura 8. Concentración y obtención de extractos crudos

Etapa experimental 2: Evaluación de los extractos crudos

Determinación de concentraciones inhibitorias

Todos los extractos obtenidos fueron evaluados, realizando una ventana biológica por cada extracto (0.05, 0.1, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 400, 800, 1000, 2000, 6000 y 10000 ppm) como prueba preliminar para determinar las concentraciones inhibitorias (Ci) en ppm la Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} sobre *Pythium amazonianum*, para la obtención de las dosis se consideró el extracto crudo a 100%, utilizando la técnica de bioensayos *in vitro* (medios envenenados).

Procediendo primeramente a preparar los medios de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), pesando 3.9 g de PDA (BIOXON®), disueltos en 100 mL de agua destilada en matraces Erlenmeyer de 250 mL, posteriormente se esterilizaron, una vez que el PDA alcanzara temperatura entre 35 a 40°C, se procedió a añadir la cantidad de extracto de acuerdo a la concentración deseada para posteriormente vaciar en cajas Petri de plástico. Consecutivamente se colocaron explantes de 0.5 cm de diámetro del fitopatógeno a evaluar, se incubaron a 25±2°C en oscuridad hasta que el crecimiento de micelio en la caja Petri del testigo (PDA sin extracto) alcanzara las medidas de la placa. El crecimiento se midió diariamente con un vernier digital, los cuales fueron usados para calcular los porcentajes de inhibición mediante la fórmula utilizada por (Ochoa *et al.*, 2012):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Crecimiento micelial del testigo} - \text{Crecimiento micelial del tratamiento}}{\text{Crecimiento micelial del testigo}} \times 100$$

Una vez obtenidos los porcentajes de inhibición se eligieron los extractos que presentaron mejor efecto inhibitorio y se descartaron los que no presentaron efecto sobre *Pythium amazonianum*, para posteriormente calcular las concentraciones inhibitorias en las cuales va estar oscilando la Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} por cada extracto analizadas por análisis Probit.

Pruebas de efectividad biológica

De los extractos que tuvieron efecto inhibitorio se les realizó una prueba de efectividad biológica donde las dosis utilizadas fueron las propuestas por el análisis Probit para inhibir un 50, 70 y 90% del patógeno, así sucesivamente con cada uno de los extractos, esto para corroborar que las dosis en ppm calculadas estén controlando al patógeno así mismo observar el comportamiento del patógeno y los extractos a esas dosis. Por lo que se utilizó la misma técnica de Bioensayos *in vitro* (medios envenenados).

Cálculo de los tiempos letales de inhibición

Para la realización del cálculo de los tiempos letales de inhibición; se tomó de referencia el método realizado por González *et al.* (1993), donde determinaron el TL_{50} en que *Beauveria bassiana* logra una mortalidad del 50% en insectos de adultos de la broca de café, por lo que se hizo una traspolación del método utilizando los porcentajes inhibitorios de los extractos causados en el patógeno según sea el caso basándose en una dosis utilizada para calcular el TL_{50} por regresión Probit tomando la concentración más alta de inhibición de crecimiento de micelio. Esto se realizó en base los datos obtenidos de las pruebas realizadas a los extractos, con la finalidad de complementar el comportamiento de los extractos sobre los patógenos en estudio y ver en qué tiempo en horas alcanzan a inhibir un 50 y 95%.

Determinación de compuestos de extractos

Para la determinación de compuestos se eligió un extracto por planta, los que presentaron mejor efecto inhibitorio en los tres fitopatógenos evaluados los cuales se enviaron analizar al Laboratorio de Metabolómica y Espectrometría de Masas LANGEBIO-CINVESTAV, donde se les realizaron las pruebas de Cromatografía y espectrometría de masas.

Análisis estadísticos

Los datos de porcentaje de inhibición en las pruebas preliminares para la determinación de las concentraciones inhibitorias Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} se analizaron mediante el sistema estadístico R versión 3.3.2 por regresión Probit. Por otro lado de los datos de porcentajes de inhibición de crecimiento se utilizó la concentración en ppm más alta por extracto donde se analizaron por regresión Probit en el sistema estadístico R versión 3.3.2 para la determinación del tiempo letal medio. En lo que respecta a las pruebas de efectividad biológica se analizaron mediante un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones presentando como variable al tiempo en horas, utilizando el sistema estadístico SAS System versión 9.0 Tukey ($p=0.05$) así mismo se graficaron en el sistema estadístico R versión 3.3.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa experimental 1: Elaboración de los extractos vegetales crudos

Se elaboró un total de 63 extractos de diferentes partes de la planta con el solvente utilizado, tiempo de reposo, agitación y temperatura utilizada para su concentración en el rotavapor (Tabla 2), denominando a cada tipo de extracto como se muestra en el anexo (Tabla 15).

Tabla 2. Elaboración de extractos vegetales de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L

Planta	Parte de la planta	Solvente	Tiempo de reposo y agitación	Temperatura
<i>Proboscidea parviflora</i> W.	Raíz, Tallo, Hojas, Flores y Vainas verdes.	Agua	30 días	90°C
		Etanol	30 días	70°C
		Hexano	30 días	60°C
		Filtrado Acuoso	30 días	0°C
		Filtrado Etanolico	30 días	0°C
		Filtrado Hexanolico	30 días	0°C
		Macerado acuoso	0 días	0°C
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	Raíz, Tallo, Hojas y Semillas.	Agua	30 días	90°C
		Etanol	30 días	70°C
		Hexano	30 días	60°C
		Filtrado Acuoso	30 días	0°C
		Filtrado Etanolico	30 días	0°C
		Filtrado Hexanolico	30 días	0°C
		Macerado acuoso	0 días	0°C

Etapa experimental 2: Evaluación de extractos crudos

Determinación de concentraciones inhibitorias

De los 63 extractos vegetales de ambas plantas únicamente ocho extractos presentaron efecto inhibitorio sobre *P. amazonianum* y dos sobre *P. vexans* y *P. cinnamomi* R. a diferentes concentraciones y con su porcentaje de inhibición resultado de la aplicación de la fórmula de % de inhibición (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto inhibitorio (%) de crecimiento de micelio de *P. amazonianum*, *P. vexans* y *P. cinnamomi* R. por extractos vegetales de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L

Fitopatógeno	Extracto	Concentración ppm	Inhibición %
<i>Pythium amazonianum</i>	E.F.P.p	2000	4.43
		2104.75	92.60
		2265.76	92.60
	E.R.P.p	211.59	15.93
		691.6	48.93
		1000	93.75
	F.A.V.v.P.p	1	25.68
		2	67.5
		4	70.06
	H.V.v.P.p	264.62	13.65
		725.67	54.31
		2935	93.75
	F.A.H.P.I	0.05	11.15
0.5		59.87	
1		73.43	
F.A.S.P.I	0.05	10.56	
	0.1	24.09	
	1	70.34	
F.A.T.P.I	10	75.65	
	20	78.21	
	60	87.46	
M.A.S.P.I	0.1	12.84	
	1	44.09	
	2	93.75	
<i>Phytophythium vexans</i>	F.A.S.P.I	0.5	0
		10	69.28
		60	81.92
	H.V.v.P.p	400	7.18
		800	59.71
1000		93.75	
<i>Phytophthora cinnamomi</i> R.	F.A.S.P.I	2000	47.56
		6000	50.56
		10000	59.80
	H.V.v.P.p	2000	18.8
		6000	47.54
		10000	85.78

Los extractos de *P. lunatus*: F.A.H.P.I, F.A.S.P.I, F.A.T.P.I y M.A.S.P.I (Tabla 3) mostraron mejor inhibición ya que al utilizar concentraciones de 0.05 ppm (F.A.H.P.I y F.A.S.P.I) inhiben 11.15 y 10.56 % del crecimiento micelial de *P. amazonianum* y al utilizar concentraciones de 2 ppm (M.A.S.P.I) alcanza un 93.75 % de inhibición solo en el caso de F.A.T.P.I se requiere utilizar concentraciones de 60 ppm para inhibir 87.46 % de crecimiento del patógeno por lo que estos extractos no rebasan la concentración de 100 ppm, mientras que los extractos de *P. parviflora* (F.A.V.v.P.p) tuvo un comportamiento similar a los extractos de *P. lunatus* por inhibir a concentraciones bajas (1, 2 y 4 ppm) controlando: 25.68, 67.5 y 70.06 % en cambio

E.R.P.p a concentraciones de 1000 ppm alcanza un 93.75 % de control, por otra parte E.F.P.p y H.V.v.P.p requieren concentraciones superiores a 2000 ppm para inhibir 93.75 % de crecimiento micelial del patógeno.

En lo que respecta a *P. vexans* y *P. cinnamomi* R., dos extractos fueron los que presentaron mejor inhibición de crecimiento micelial; el extracto de *P. lunatus* (F.A.S.P.I) a 60 ppm inhibe 81.92% a *P. vexans* mientras que a *P. cinnamomi* necesita una concentración de 10000 ppm para lograr inhibir un 59.80% de este patógeno. Por lo que el extracto de *P. parviflora* (H.V.v.P.p) para inhibir un 93.75% el desarrollo de *P. vexans* necesita una dosis de 1000 ppm mientras que para inhibir a *P. cinnamomi* en un 85.78% necesita una concentración de 10000 ppm, comparando estos dos extractos contra los porcentajes de inhibición obtenidos en el patógeno *P. amazonianum*, observamos que en el caso del extracto F.A.S.P.I a concentraciones de 1 ppm logra inhibir un 70.34% mientras que H.V.v.P.p a 2935 ppm inhibe en un 93.75%; lo cual podemos deducir que F.A.S.P.I controla a los tres fitopatogenos a concentraciones más bajas que H.V.v.P.p ya que de este extracto se requieren dosis más altas, pudiéndose deber a las características genéticas de los patógenos sin olvidar el posible nivel de resistencia que poseen. Por lo que los resultados anteriores difieren por lo reportado por Tequida *et al.* (2002), donde reportan porcentajes de inhibición de crecimiento (86.6%) de *Fusarium poae* bajo los efectos de extractos etanolicos de *P. parviflora*, elaborados a una concentración de 6%, lo cual explica los requerimientos de dosis bajas, sin olvidar que *F. poae* pertenece a la clase deuteromicetos hongos verdaderos ya que en su pared celular está compuesta por quitina (el polímero de N-acetil glucosamina) y en oomicetes se compone por β -1,3 y β -1,6 glucanos (William y Niklaus, 2010). Por su parte Asait *et al.* (2010), mencionan que en un análisis de exudados de tricomas glandulares de *Proboscidea louisiana* contiene un 47% de triterpenos y 38% de glucosiloxi-acidos grasos; ya que los triterpenos poseen efectos fungicidas (Rodríguez *et al.*, 2000).

Con los datos anteriores de inhibición se procedió a realizar el cálculo de las concentraciones inhibitorias Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} , mediante el sistema estadístico R versión 3.3.2 por regresión Probit (Tabla 4).

Tabla 4. Concentraciones inhibitorias (Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90}) de los extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. sobre el crecimiento de micelio de *P. amazonianum*, *P. vexans* y *P. cinnamomi* R

Fitopatógeno	EXTRACTO	Ci	Concentración ppm	Limites fiduciales 95%	Limites fiduciales 95%
<i>Pythium amazonianum</i>	E.F.P.p	Ci_{50}	2075.19	2034.05338	2117.33454
		Ci_{70}	2114.29	2076.48878	2172.06758
		Ci_{90}	2172.05	2126.83579	2266.83317
	E.R.P.p	Ci_{50}	391.65	231.32232	766.67231
		Ci_{70}	1062	575.68839	3074
		Ci_{90}	4483	1819	26939
	F.A.V.v.P.p	Ci_{50}	2.16	0.38285	3.89368
		Ci_{70}	12.14	5.89028	909.51818
		Ci_{90}	146.32	26.82887	27165148
	H.V.v.P.p	Ci_{50}	622.12	516.39237	734.22010
		Ci_{70}	948.19	803.43676	1142
		Ci_{90}	1742	1411	2330
	F.A.H.P.I	Ci_{50}	0.32	0.28456	0.36183
		Ci_{70}	0.79	0.68432	0.95366
		Ci_{90}	2.98	2.32070	4.04530
	F.A.S.P.I	Ci_{50}	0.34	0.30661	0.38703
		Ci_{70}	0.82	0.70816	0.97405
		Ci_{90}	2.89	2.27718	3.84548
	F.A.T.P.I	Ci_{50}	1.13	0.21646	2.56495
		Ci_{70}	6.33	2.93911	9.46511
		Ci_{90}	75.75	52.53243	150.75531
M.A.S.P.I	Ci_{50}	0.73	0.50927	1.10830	
	Ci_{70}	1.47	0.99869	2.81357	
	Ci_{90}	3.97	2.23108	12.78343	
<i>Phytophythium vexans</i>	F.A.S.P.I	Ci_{50}	8.0	5.5	10.8
		Ci_{70}	24.6	19.0	31.7
		Ci_{90}	123.9	90.4	184.0
	H.V.v.P.p	Ci_{50}	692.2	559.7	820.0
		Ci_{70}	884.8	746.9	1094
		Ci_{90}	1261	1033	1817
<i>Phytophthora cinnamomi</i> R.	F.A.S.P.I	Ci_{50}	5828	2382	7114
		Ci_{70}	18220	12288	224772
		Ci_{90}	94463	32168	134180231
	H.V.v.P.p	Ci_{50}	4921	3557	6677
		Ci_{70}	7856	5888	12939
		Ci_{90}	15435	10186	40260

En base a la Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} para inhibir a *P. amazonianum*, los extractos de *P. parviflora*: E.F.P.p mostró efecto inhibitorio dentro de las concentraciones propuestas por el análisis Probit (Tabla 4) ya que coinciden con los % de inhibición (Tabla 3) y observando el desplazamiento de la curva regresión Probit (Figura 9) efecto que no supera las 2200 ppm para inhibir el crecimiento micelial del patógeno a un 90%, observando cierta similitud en H.V.v.P.p sin superar estas concentraciones, sin embargo, E.R.P.p y F.A.V.v.P.p en el análisis Probit (Tabla 4) propone que se utilicen dosis un poco más altas para lograr dicho efecto inhibitorio. Por otro lado en

los extractos de *P. lunatus* (F.A.H.P.I, F.A.S.P.I, F.A.T.P.I y M.A.S.P.I) coinciden con los de *P. parviflora* (E.R.P.p y F.A.V.v.P.p) donde el análisis Probit (Tabla 4) sugiere utilizar concentraciones un poco más altas pero sin rebasar las 100 ppm para el caso de los extractos de *P. lunatus*.

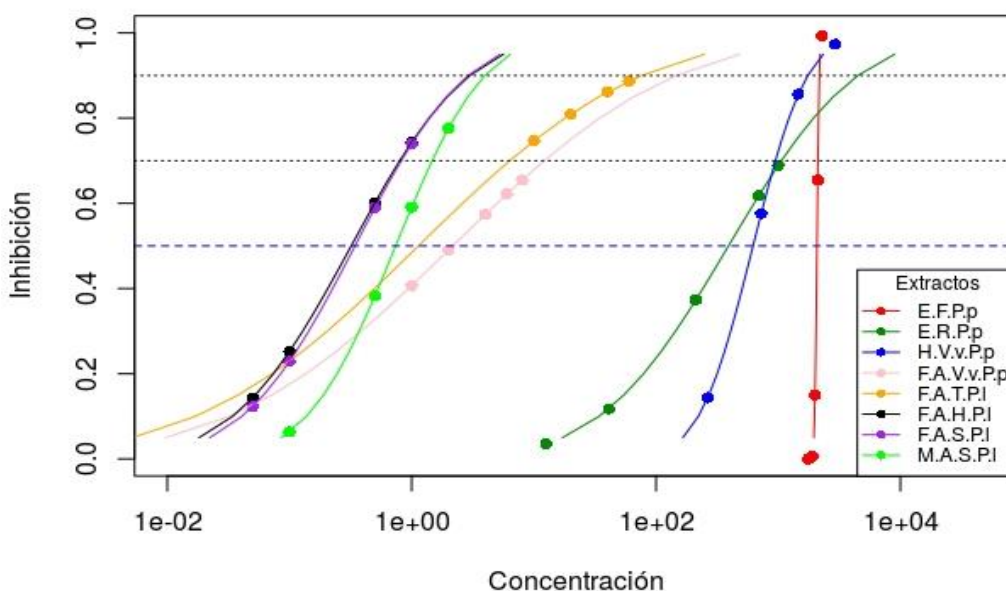


Figura 9. Regresión Probit de inhibición de crecimiento de micelio de *P. amazonianum* bajo los efectos de extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L.

En lo que respecta a las dosis propuestas para inhibir a *P. vexans* vemos que el extracto de F.A.S.P.I requiere utilizar dosis un poco más altas ya que para inhibir el 90% del patógeno se requieren 123.9 ppm, mientras que para inhibir a *P. cinnamomi* en un 90% se requiere una dosis de 94463 ppm (Tabla 4), por otro lado el extracto de H.V.v.P.p se necesitan dosis más bajas para controlar a *P. vexans* en un 90% se requieren 1261 ppm y en *P. cinnamomi* para lograr el mismo porcentaje de inhibición se necesitan 15435 ppm (Tabla 4), pudiendo deducir que H.V.v.P.p y F.A.S.P.I controla mejor a los tres fitopatógenos (Figura 10).

Los resultados coinciden con lo propuesto por Milagrosa *et al.* (2007), donde mencionan que utilizando un subproducto agroindustrial (vinaza de vino) a concentraciones de 50 y 70 ppm inhiben el crecimiento de *Pythium aphanidermatum*

y *Phytophthora parasítica* en 100%, por su parte Gamboa *et al.* (2003) evaluaron un extracto metanolico de *Origanum mejorana* L. donde utilizaron concentraciones de 8,000 ppm y un producto sintético (Metalaxil a 750 ppm) para inhibir hasta un 100% a *Phytophthora infestans*.

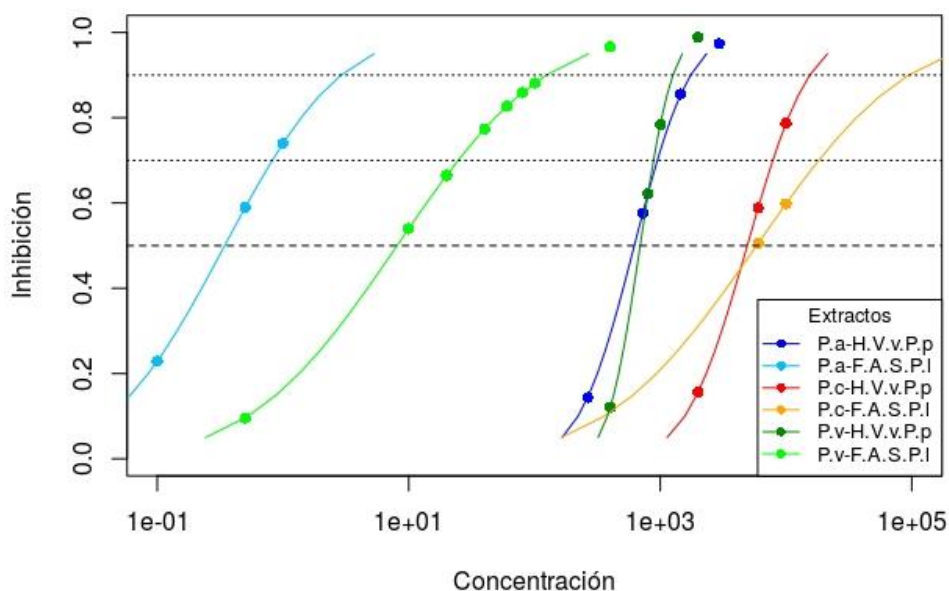


Figura 10. Regresión Probit de inhibición de crecimiento de micelio de *P. amazonianum*, *P. cinnamomi* R. y *P. vexans* bajo los efectos de extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L.

Pruebas de efectividad biológica

Una vez conocidas las concentraciones inhibitorias Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} en ppm propuestas por el análisis Probit, para cada extracto se procedió a realizar las pruebas de efectividad biológica sobre los tres fitopatógenos en estudio utilizando las dosis en ppm correspondientes a la Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} , reportando porcentajes de inhibición de los extractos sobre los fitopatógenos evaluados como se muestra en las Tablas 5, 6 y 7.

Tabla 5. Efecto inhibitorio (%) de *P. amazonianum* por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. a 120 h

EXTRACTO	Media±SD Tukey (p=0.05)		
	C_{i50}	C_{i70}	C_{i90}
F.A.S.P.I	45.02±1.55 AB	61.21±1.63 A	76.47±1.00 A
F.A.H.P.I	40.21±1.73 BC	56.77±4.65 A	68.05±3.08 A
H.V.v.P.p	49.11±3.22 A	62.00±32.60 A	75.82±17.89 A
F.A.V.v.P.p	49.40±2.73 A	61.51±3.45 A	77.68±1.26 A
M.A.S.P.I	45.02±0.47 AB	67.19±1.75 A	78.99±1.52 A
E.F.P.p	36.95±6.77 C	54.43±8.66 A	75.27±0.67 A
E.R.P.p	47.46±5.55 AB	61.87±4.65 A	71.80±3.08 A
F.A.T.P.I	40.05±1.89 BC	72.06±10.33 A	79.67±0.87 A

En la tabla anterior se puede observar que ocho extractos presentaron efecto inhibitorio sobre *P. amazonianum* los extractos de *P. parviflora* (F.A.V.v.P.p, H.V.v.P.p y E.R.P.p) presentaron porcentajes muy cercanos al 50% de inhibición, mientras que E.F.P.p obtuvo 36.95% lo que representa un 13.05% menos del valor esperado pero en el caso de las concentraciones C_{i70} y C_{i90} el porcentaje de inhibición estuvo dentro del rango esperado notando que F.A.T.P.I presentó 72% y 79.67% de inhibición, mencionando que estos resultados están bajos debido a que para poder hacer el análisis estadístico el porcentaje real se transformó a arcoseno y luego fue multiplicado por el 100%. Por otra parte en la Figura 11, se puede observar que los dos extractos H.V.v.P.p y F.A.S.P.I al utilizar concentraciones para inhibir un 70 y 90% presentan un comportamiento ascendente de inhibición conforme pasa el tiempo en donde el extracto H.V.v.P.p en las primeras 24 h logra inhibir cerca de 65%, a las 48 h hasta un 78%, a 72 y 96 h mantiene un 80% y a 120 h inhibe 85%, mientras que el extracto F.A.S.P.I presenta un efecto similar solo que este extracto en las primeras 24 h inhibe 25% pero conforme pasa el tiempo la inhibición aumenta de modo que a 72 a 96 h mantiene un 100% y a 120 h la inhibición baja a un 85%, observando que este efecto pudo deberse a que los metabolitos que están presentes en el extracto se degradaron o el patógeno logró adaptarse a las condiciones para desarrollarse. A modo que para ambos extractos es preferible utilizar concentraciones que inhiban más del 70% para lograr un buen control.

Nuestros resultados coinciden por lo propuesto por Santiago *et al.* (2007), donde obtuvieron hasta un 100% de inhibición utilizando aceite esencial de tomillo a 500 ppm evaluándolo sobre *Pythium aphanidermatum* por lo que en el experimento los extractos: H.V.v.P.p para inhibir Ci_{50} , Ci_{70} y Ci_{90} se utilizaron 622, 948 y 1742 ppm y en F.A.S.P.I se usaron 0.34, 0.82 y 2.89 ppm para inhibir a *P. amazonianum*, coincidiendo con Milagrosa *et al.* (2007) donde utilizaron dosis bajas 50 y 70 ppm del extracto vinaza de vino para inhibir a *P. aphanidermatum*.

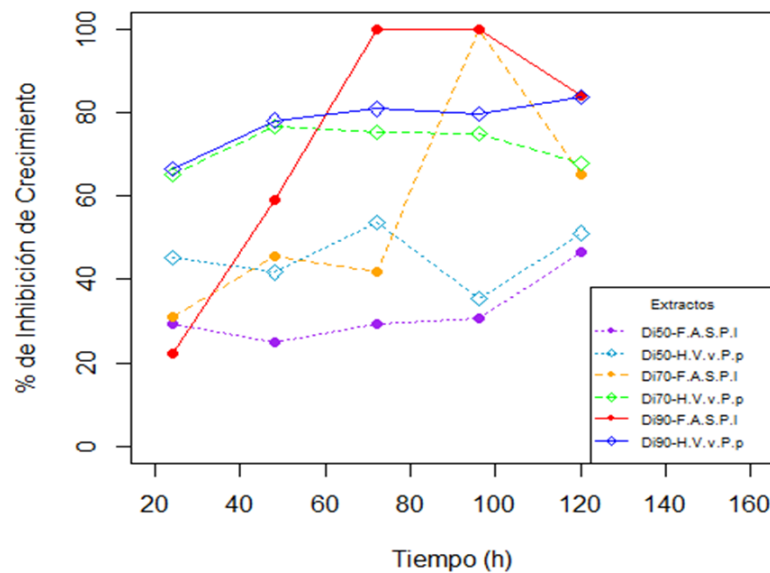


Figura 11. Comportamiento inhibitorio (%) de *P. amazonianum* por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. cada 24 h hasta 120 h

En lo que respecta a *Phytophythium vexans* dos extractos mostraron efecto inhibitorio siendo F.A.S.P.I y H.V.v.P.p los extractos; F.A.S.P.I a concentraciones inhibitorias Ci_{70} y Ci_{90} alcanza un 55 y 77% de inhibición mientras que H.V.v.P.p logra un 77% de inhibición en ambas concentraciones (Tabla 6), nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Benfadj *et al.* (2016), donde reportan hasta un 100% de inhibición de *Phytophythium spp.*, utilizando productos funguicidas. Así mismo se observó que las dosis utilizadas para controlar a *P. vexans* son más elevadas con respecto a las usadas para *P. amazonianum* en este experimento (Tabla 4).

Tabla 6. Efecto inhibitorio (%) de *P. vexans* por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. a 120 h

EXTRACTO	Media±SD		
	C_{750}	C_{70}	C_{90}
F.A.S.P.I	57.85±3.13 A	55.30±1.64 B	77.72±0.00 A
H.V.v.P.p	24.12±4.06 B	77.72±0.00 A	77.72±0.00 A

En la Figura 12, se puede observar que los dos extractos H.V.v.P.p y F.A.S.P.I al utilizar concentraciones para inhibir a *P. vexans* en un 70 y 90% presentan un mismo comportamiento ascendente de inhibición conforme pasa el tiempo algo similar observado en el patógeno *P. amazonianum* ya que como se mencionó este efecto pudo deberse a que los metabolitos que están presentes en el extracto se van degradando conforme pasa el tiempo y el patógeno logra adaptarse a las condiciones para desarrollarse. A modo que para ambos extractos no es preferible utilizar concentraciones que inhiban un 50% ya que a estas concentraciones favorecen la tolerancia del fitopatógeno.

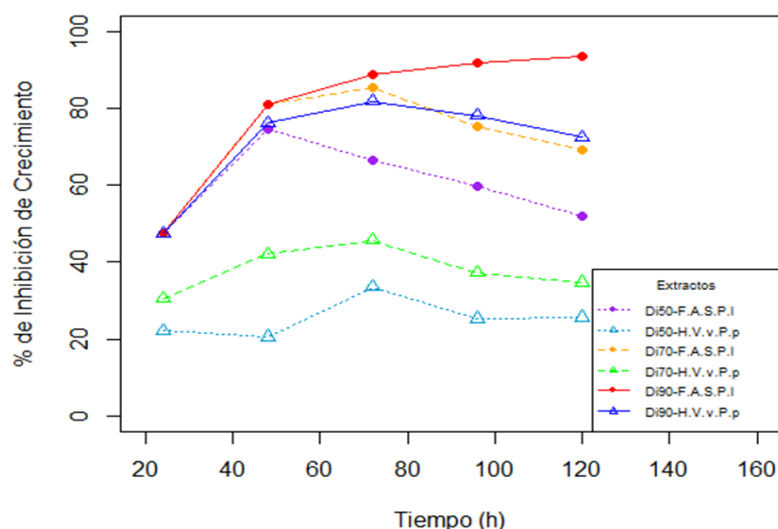


Figura 12. Comportamiento inhibitorio (%) de *P. vexans* por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. cada 24 h hasta 120 h

En *Phytophthora cinnamomi* (Tabla 7), se muestra que los extractos que mostraron mejor efecto inhibitorio fueron los mismo que controlaron a *P. vexans* pero a concentraciones mucho más altas (Tabla 4) por lo que en la Tabla 7, los resultados del análisis estadístico comparando los porcentajes de inhibición a 216 h arroja como resultados que es preferible utilizar dosis que inhiban un 70 y 90% de los extractos H.V.v.P.p y F.A.S.P.I ya que en este tiempo logra hasta un 77.72% de inhibición, los resultados anteriores se asemejan con lo reportado por Rodríguez *et al.* (2000) donde reportan hasta un 100% de inhibición de crecimiento de micelio de *Phytophthora parasítica var. nicotianae*, bajo el efecto de los extractos de aroma, escoba amarga y salvia.

Tabla 7. Efecto inhibitorio (%) de *P. cinnamomi* R. por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. a 216 h

EXTRACTO	Media±SD		
	C_{i50}	C_{i70}	C_{i90}
F.A.S.P.I	57.85±3.13 A	55.30±1.64 B	77.72±0.00 A
H.V.v.P.p	24.12±4.06 B	77.72±0.00 A	77.72±0.00 A

Por lo anterior en la Figura 13, observamos que al aplicar concentraciones inhibitorias C_{i70} y C_{i90} en el extracto de H.V.v.P.p siguen el mismo patrón de inhibición en forma ascendente con forme pasa el tiempo e incluso ambas dosis provocan los mismo porcentajes de inhibición mientras que al utilizar una C_{i50} el patógeno tiende a desarrollarse por lo que se manifiesta una disminución de inhibición de forma decreciente conforme pasa el tiempo, lo que no ocurrió con el extracto de F.A.S.P.I ya que la C_{i50} y C_{i70} en las primeras 48 h activa el crecimiento hasta en un 22% y conforme pasa el tiempo logra un 50% de inhibición a 216 h y al utilizar una dosis para controlar un 90% tiene un comportamiento similar a las dosis utilizadas en el extracto H.V.v.P.p.

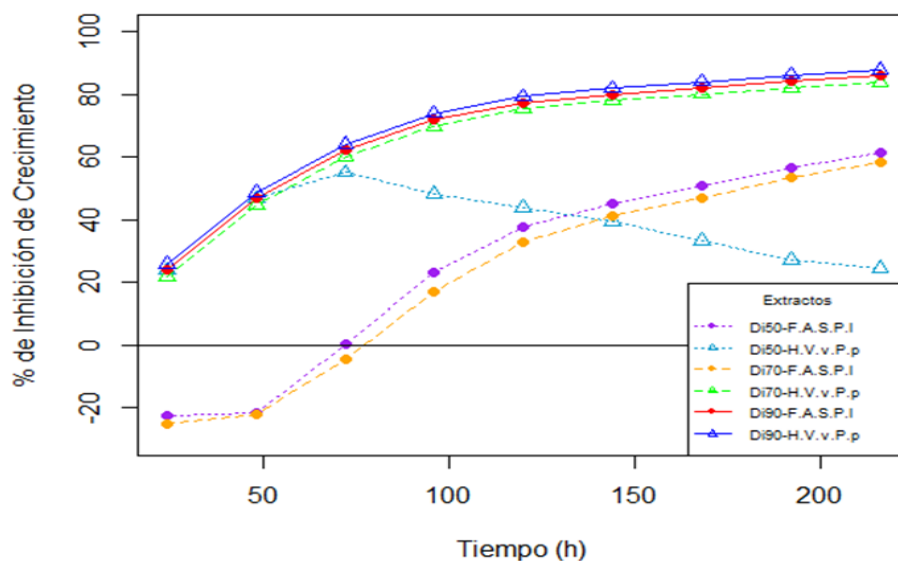


Figura 13. Comportamiento inhibitorio (%) de *P. cinnamomi* R. por extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L. cada 24 h hasta 216 h

Cálculo de los tiempos letales de inhibición

Los extractos de *P. parviflora* (E.F.P.p, E.R.P.p y H.V.v.P.p) mostraron un tiempo letal del 50% de inhibición de crecimiento de *P. amazonianum* en las primeras 19.57 h e inhiben un 95% a las 116.10 h en el caso de F.A.V.v.P.p inhibe el 50% a 95.37 h y el 95% a 258.86 h para el caso de los extractos de *P. lunatus* (F.A.T.P.I, F.A.H.P.I y F.A.S.P.I) presentan un efecto similar a F.A.V.v.P.p requiriendo más tiempo para lograr un 50 % de inhibición a diferencia de M.A.S.P.I quien presenta similitud con E.F.P.p, E.R.P.p y H.V.v.P.p necesitando menos tiempo para controlar un 50 %, observando que aplicando dosis en ppm altas (E.F.P.p, E.R.P.p y H.V.v.P.p) superan un 50% de inhibición de crecimiento del patógeno en las primeras 24 h excepto M.A.S.P.I que a concentraciones bajas logra el efecto y aplicando dosis bajas (F.A.V.v.P.p, F.A.T.P.I, F.A.H.P.I y F.A.S.P.I) se requiere de más tiempo para lograr un 50 % de inhibición de crecimiento de *P. amazonianum* (Tabla 8).

Tabla 8. Tiempo letal medio (TL₅₀) de inhibición de *P. amazonianum* bajo la influencia de los extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L

EXTRACTO	DF	TL ₅₀	LTL	UTL	TL ₀₅	TL ₉₅	INTERACION	PENDIENTE	PVALOR
E.F.P.p	19	19.578	17.875	21.205	3.301	116.106	-2.748	2.127	2.022729e-145
E.R.P.p	19	19.578	17.875	21.205	3.301	116.106	-2.748	2.127	2.022729e-145
F.A.V.v.P.p	19	95.373	91.507	99.763	35.138	258.866	-7.508	3.793	7.318107e-84
H.V.v.P.p	19	19.578	17.875	21.205	3.301	116.106	-2.748	2.127	2.022729e-145
F.A.H.P.I	19	62.941	59.707	66.312	11.575	342.225	-4.023	2.236	7.662162e-90
F.A.S.P.I	19	72.631	69.896	75.534	15.799	333.888	-4.621	2.482	2.538485e-152
F.A.T.P.I	19	28.290	26.575	29.934	3.885	205.976	-2.769	1.907	8.503689e-194
M.A.S.P.I	19	19.578	17.875	21.205	3.301	116.106	-2.748	2.127	2.022729e-145

DF: Grados de libertad, TL: Tiempo letal, LTL: Límite de tiempo inferior y UTL: Límite de tiempo superior

En el caso de *P. vexans* el extracto F.A.S.P.I requiere 32.8 h para inhibir un 50% y 125.7 h para inhibir el 95% de este patógeno, mientras que H.V.v.P.p en 23.7 h controla un 50% y a 115.7 h controla el 95%, observando un comportamiento similar con los extractos de *P. parviflora* y *P. lunatus* utilizados en *P. amazonianum* (Tabla 9).

Tabla 9. Tiempo letal medio (TL₅₀) de inhibición (h) de *Phytophthium vexans* bajo la influencia de los extractos de *Proboscidea parviflora* W. y *Phaseolus lunatus* L

EXTRACTO	DF	TL ₅₀	LTL	UTL	TL ₀₅	TL ₉₅	INTERCEPTO	PENDIENTE	PVALOR
F.A.S.P.I	19	32.8	30.0	35.4	8.5	125.7	-4.2	2.8	3.2236e-69
H.V.v.P.p	19	23.7	21.8	25.5	4.8	115.7	-3.2	2.3	4.4852e-13

DF: Grados de libertad, TL: Tiempo letal, LTL: Límite de tiempo inferior y UTL: Límite de tiempo superior

Para *P. cinnamomi* R., el extracto de F.A.S.P.I requiere 166.4 h para inhibir el 50% y para inhibir el 95% ocupa 494 h mientras que el extracto H.V.v.P.p controla un 50% a 52.6 h y un 95% a 391.3 h efecto similar a los extractos anteriores en *P. vexans* ya que para *P. cinnamomi* R., se necesita más tiempo para ambos extractos (Tabla 10).

Tabla 10. Tiempo letal medio (TL50) de inhibición (h) de *P. cinnamomi* R. bajo la influencia de los extractos de *P. parviflora* W. y *P. lunatus* L

EXTRACTO	DF	TL ₅₀	LTL	UTL	TL ₀₅	TL ₉₅	INTERCEPTO	PENDIENTE	PVALOR
F.A.S.P.I	35	166.4	157.3	177.4	56.0	494.1	-7.7	3.4	4.825e-50
H.V.v.P.p	35	52.6	50.9	54.2	7.0	391.3	-3.2	1.8	0.000

DF: Grados de libertad, TL: Tiempo letal, LTL: Límite de tiempo inferior y UTL: Límite de tiempo superior

Por lo anterior podemos mencionar que en patógeno *P. cinnamomi* R., *P. vexans* y *P. amazonianum* los extractos requieren de diferente tiempo para inhibir dichos porcentajes pudiéndose deber a que los patógenos poseen una tasa de crecimiento diferente según sea el caso, por otro lado una explicación es que las dosis de los extractos de *P. lunatus* son más bajas en *P. amazonianum* y *P. vexans* que en *P. cinnamomi* razón por la cual se requiere más tiempo.

Determinación de compuestos de extractos vegetales

En el extracto H.V.v.P.p, los cromatogramas indican la presencia de 14 compuestos (Figuras 14 y 15) más representativos categorizándolos en orden alfabético por lo que se enlistan en las Tablas 11 y 12.

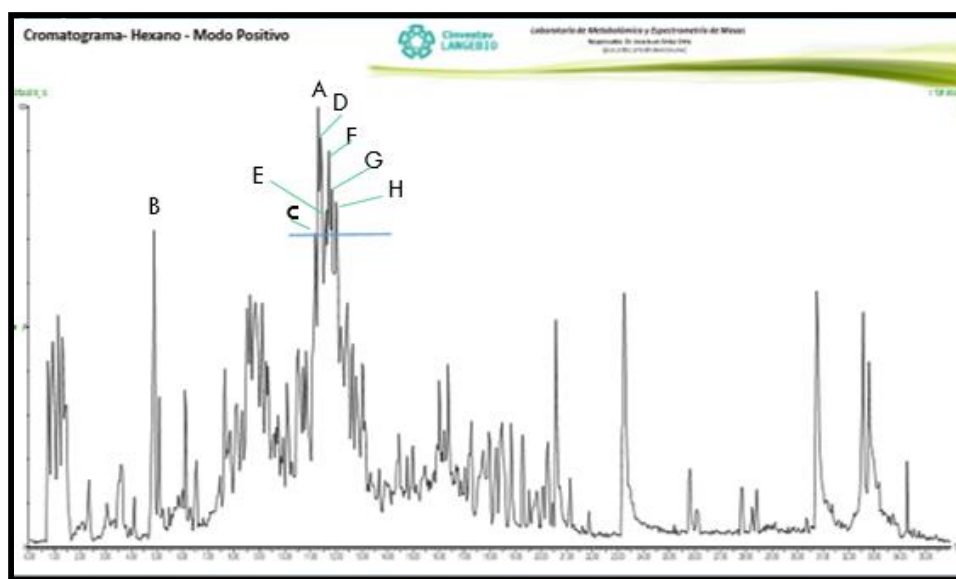


Figura 14. Cromatograma de muestra de extracto H.V.v.P.p a modo positivo

Tabla 11. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto H.V.v.P.p a modo positivo

	COMPUESTOS	FORMULA QUIMICA
A	Dimethindene	C ₂₀ H ₂₄ N ₂
B	1-Hydroxyacorenone	C ₁₅ H ₂₂ O ₃
C	Geranylacetone	C ₁₃ H ₂₂ O
D	Dehydroisochalciporone	C ₁₆ H ₁₉ NO
E	2-Methylphenyl 2-methylpropanoate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂
F	Valyl-Hydroxyproline	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₄
G	Unknown	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₄
H	Unknown	C ₁₀ H ₁₇ O ₅

En lo que respecta a la tabla anterior los compuestos con carga positiva: Geranylacetone, 1-Hydroxyacorenone, pertenecen a la familia de los monoterpenos y 2-Methylphenyl 2-methylpropanoate quien pertenece a los compuestos esteres fenólicos (TMIC, 2017), por lo que Santiago *et al.* (2007), mencionan que los monoterpenos como el cineol y eugenol inhiben completamente el crecimiento de *Pythium spp.* Por otra parte Miko, (2004) menciona que el Dimethindene posee efectos antihistamínicos y se utiliza principalmente para el tratamiento de los síntomas asociados con las enfermedades alérgicas (urticaria, picazón y fiebre del heno). Antkowiak *et al.* (1991), mencionan que la Dehydroisochalciporone posee una fuerte actividad antimicrobiana. Kern *et al.* (1989), mencionan que Valyl-Hydroxyproline es un dipéptido con propiedades antimicrobianas.

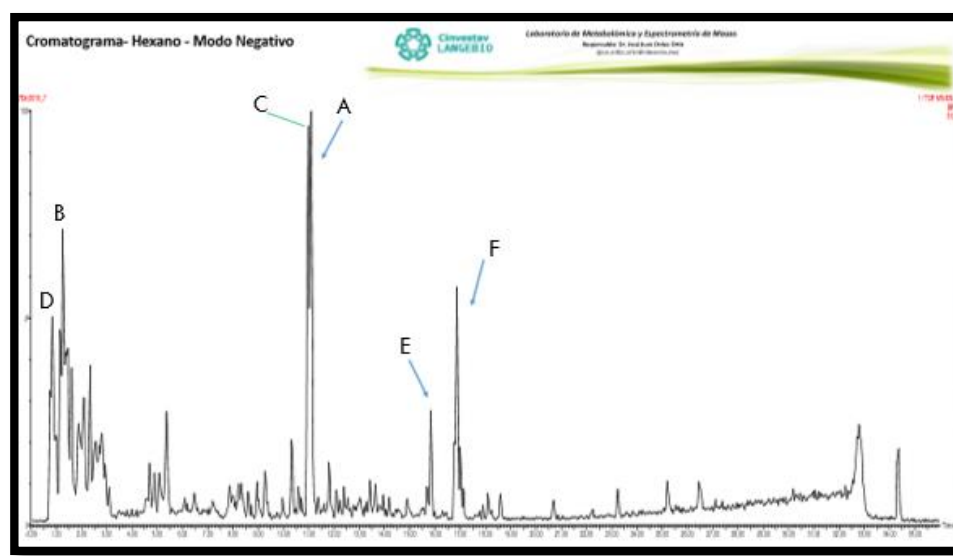


Figura 15. Cromatograma de muestra de extracto H.V.v.P.p a modo negativo

Tabla 12. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto H.V.v.P.p a modo negativo

	COMPUESTOS	FORMULA QUÍMICA
A	Cyclocurcumin	C ₂₁ H ₂₀ O ₆
B	(S)-Reticuline	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄
C	Austdiol	C ₁₂ H ₁₂ O ₅
D	2-Isopropyl-1,4-hexadiene	C ₉ H ₁₆
E	9S,10S,11R-trihydroxy-12Z-octadecenoic acid	C ₂₁ H ₃₄ NO ₃ ⁺
F	N-Methylschinifoline	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂

Los compuestos encontrados en el extracto H.V.v.P.p con carga negativa (Tabla 12 y Figura 15), algunos de ellos como la Cyclocurcumin tiene usos como antivasoconstructor con efecto inhibitorio de la contracción del musculo liso en humanos (Kim *et al.*, 2016), el Austdiol es un metabolito toxico considerado como micotoxina (Pussa, 2014).

En el extracto F.A.S.P.I, los cromatogramas muestran la presencia de 14 compuestos (Figuras 16 y 17) más representativos categorizándolos alfabeticamente por lo que se enlistan en las Tablas 13 y 14.

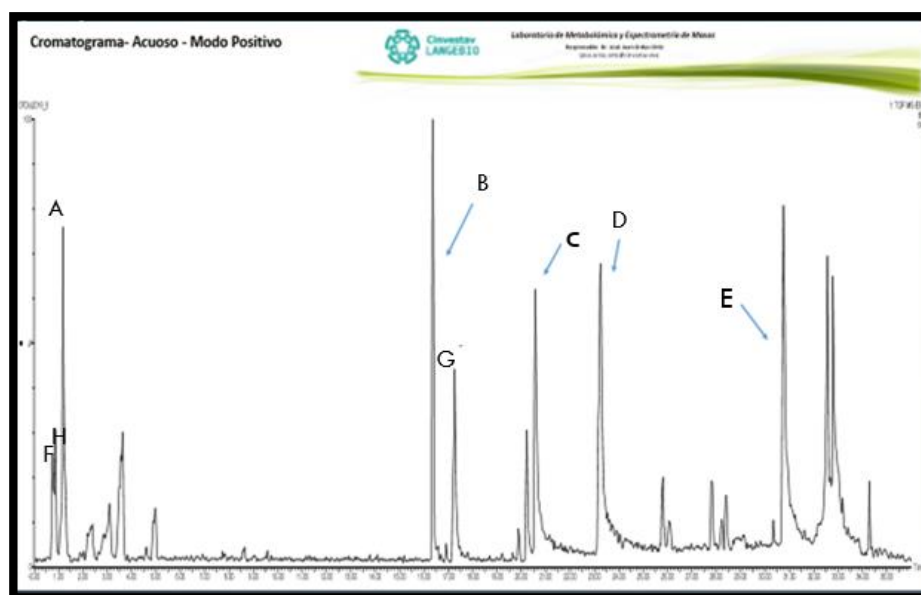


Figura 16. Cromatograma de muestra de extracto F.A.S.P.I a modo positivo

Tabla 13. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto F.A.S.P.I a modo positivo

	COMPUESTOS	FORMULA QUÍMICA
A	Cycasin	C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₇
B	Asparaginy-Glycine	C ₆ H ₁₁ N ₃ O ₄
C	Avocadene 2-acetate	C ₁₉ H ₃₆ O ₄
D	Unknown	C ₉ H ₁₇ NO ₂
E	Pentadecanoylglycine	C ₁₇ H ₃₃ NO ₃
F	Phosphoglycolic acid	C ₂ H ₅ O ₆ P
G	Biphenyl	C ₁₂ H ₁₀
H	(S)-Isosclerone	C ₁₀ H ₁₀ O ₃

En el extracto F.A.S.P.I, los compuestos con carga positiva como la Cycasin, es un compuesto carcinógeno y neurotóxico (Laqueur y Spatz, 1968), la Asparaginy-Glycine tiene efectos de degradación de proteínas (Boles *et al.*, 2016), el Biphenyl inhibe el crecimiento de los hongos y mohos y es utilizado como conservador (TMIC, 2017). En lo que respecta a los compuestos con carga negativa no hay reporte como antimicrobianos.

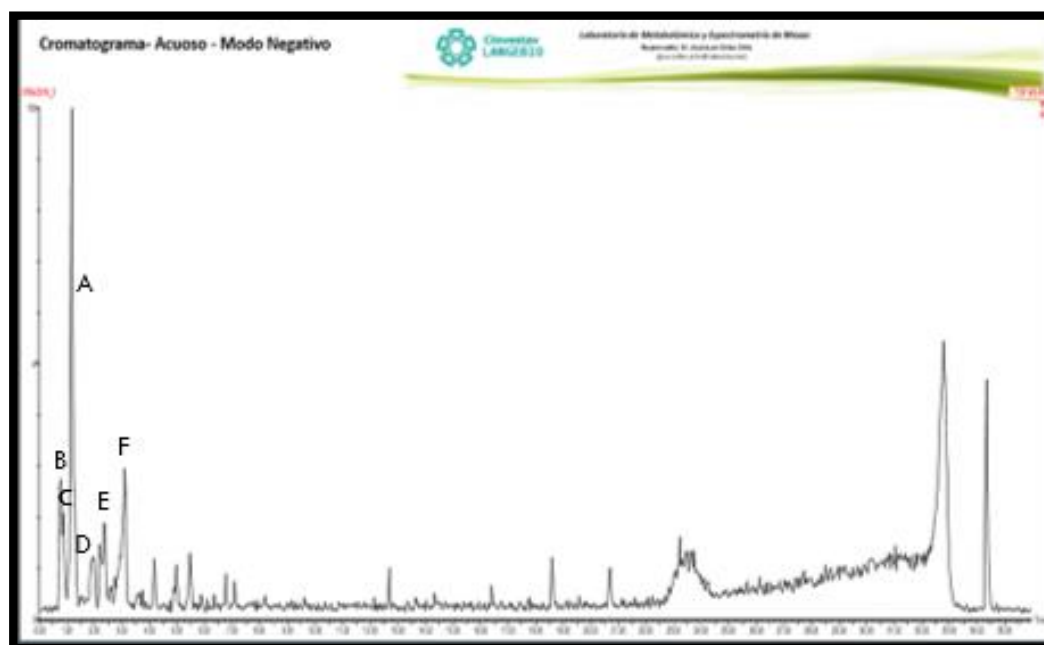


Figura 17. Cromatograma de muestra de extracto F.A.S.P.I a modo negativo

Tabla 14. Compuestos presentes en muestra analizada del extracto F.A.S.P.I a modo positivo

	COMPUESTOS	FORMULA QUÍMICA
A	1-[(5-Amino-5-carboxypentyl)amino]-1-deoxyfructose	C ₁₂ H ₂₄ N ₂ O ₇
B	Glutamyl-Asparagine	C ₉ H ₁₄ N ₃ O ₆
C	1,3-Octadiene	C ₈ H ₁₄
D	Estriol-3-glucuronide	C ₂₄ H ₃₂ O ₉
E	Nebularine	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₄
F	Imidazolelactic acid	C ₆ H ₈ N ₂ O ₃

CONCLUSIONES

Se obtuvieron porcentajes de inhibición superiores a 70 por ciento en los tres fitopatógenos evaluados.

Los extractos que mostraron mejor efecto inhibitorio fueron H.V.v.P.p y F.A.S.P.I en ambos patógenos.

El TL₅₀ estimado para los extractos de *P. parviflora* inhiben en menos tiempo mientras que los extractos de *P. lunatus* requieren más tiempo.

Se detectaron cinco compuestos en el extracto H.V.v.P.p con propiedades antifúngicas y antimicrobianas, en F.A.S.P.I solo un compuesto tiene efecto antifúngico atribuyendo a estos dicho efecto inhibitorio.

LITERATURA CITADA

- Afanador K. L., D. Minz, M. Maymon y S. Freeman, 2003. Characterization of Colletotrichum Isolates from Tamarillo, Passiflora, and Mango in Colombia and Identification of a Unique Species from the Genus. *Phytopathology*, 93(5), 579-587. doi:10.1094/phyto.2003.93.5.579.
- Agrios G.N., 1988. *Plant Pathology*. Third Edition. Academic Press, Inc. San Diego, California, USA. 803 p.
- Alexopoulos C.J., C.W. Mims y M. Blackwell, 1996. *Introductory mycology*. 4th ed. 868 p.
- Al-Sa'di A. M., A. Drenth, M. L. Deadman, F. A. Al-Said, I. Khan and E. A. B. Aitken, 2007. Potential sources of *Pythium* inoculum into greenhouse soils with no previous history of cultivation. *J. Phytopathol.* 156:502-505.
- Anderson B. S., J. W. Hunt, B. M. Phillips, P. A. Nicely, V. Vlaming, V. Connor, N. Richard y R. S. Tjeerdema, 2003. Integrated assessment of the impacts of agricultural drainwater in the Salinas River (California, USA). *Environmental Pollution* 124: 525-532.
- Antkowiak R., W. Z. Antkowiak and A. Brossi, 1991. The alkaloids from mushrooms. *Chemistry and Pharmacology*. National Institutes of Health Bethesda, Maryland 40: 306-307.
- Asai T., T. Sakai, K. Ohyama y Y. Fujimoto, 2011. N-Ocetyl α -L-Rhamnopyranosyl-(1-2) β -D-glucopyranoside derivatives from the glandular trichome exudate of *Geranium carolinianum*. *Chem. Pharm. Bull.* 59 (6) 747-752.
- Bajwa R., A. Kjalidy y T.S. Cheema, 2003. Antifungal activity of allelopathic plant extracts. III. Growth response of some pathogenic fungi to aqueous extract of *Parthenium hysterophorus*. *Pakistan Journal of Plant Pathology* 2: 145-156.

- BANCOMEXT, 2010. Banco Nacional de Comercio Exterior, S.N.C. <http://www.bancomext.com/Bancomext/secciones.html>. (Fecha de consulta el 9 de febrero del 2010).
- Barocio J. A., 2016. Campaña contra plagas reglamentadas del aguacatero. Comité Estatal de Sanidad Vegetal Jalisco. Informe de avances mensuales Diciembre 2016. 4-23.
- Bayles A., 1979. Aceites y Grasas Industriales. Reverte, Argentina. S.C.A. Vol 11, pp. 432-440.
- Benfadj N., S. Tounsi and N. Boughalleb, 2016. In-vitro Evaluation of Antagonists and Fungicides in Controlling Citrus Gummosis Caused by Phytophthora, Phytophthora and Pythium species in Tunisia. British Microbiology Research Journal 16(1): 1-14.
- Bergh B., 1992. Nutritious value of avocado. California Avocado Society Yearbook 76: 123-135.
- Bergh B. and N. Ellstrand, 1986. Taxonomy of the avocado. Calif. Avocado Soc. Yearbook 70:135-146.
- Boles G. C., W. Ranran, M.T. Rodgers, and P. B. Armentrout, 2016. Thermodynamics and Mechanisms of Protonated Asparaginy-Glycine Decomposition. The Journal of Physical Chemistry. DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b03253.
- Bravo L. L., T. K. Bermúdez y B. R. Montes, 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. Manejo Integrado de Plagas 57:29-34.
- Bretting P. K. y G. P. Nabhan, 1986. Ethnobotany of Devil's Claw (*Proboscoidea parviflora* ssp. *Parviflora*: Martyniaceae in the Greater Southwest. Journal of California and Basin Anthropology 8(2): 226-237.

- Briceño G., J. García, A. Maselli and L. C. Rosales, 2012. Effect of ethanolic extracts of rue and neem on the control of phytopathogenic bacteria of the genus *Erwinia*. *Agronomia Tropical* 61 (2): 141-148.
- Chapagain B. P., Z. Wiesman and L. T. Lahkim, 2007. *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products* 26: 109-115.
- Coria A.V.M., 2009. Tecnología para la Producción de Aguacate en México. "2da. Edición. SAGARPA-INIFAP. Uruapan, Michoacán, México 222p.
- De Cock A. W. A. M., A. M. Lodhi, T. L. Rintoul, K. Bala, G. P. Robideau, Z. Gloria, M. D. Coffey, S. Shahzad, C. A. Lévesque, 2015. *Phytophthora*: molecular phylogeny and systematics. *Persoonia* 34: 25-39.
- Delgado A., T. Turley, A. Richman and M. Lavin, 1999. Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany* 24:438-460.
- Dick W. M., 1990. Keys to Pythium. Ed. Dick, M. W. Department of Botany. School of Plant Sciences. University of Reading. Reino Unido. 64 p.
- Drori N., H. Kramer, R. Haimovch, J., Dinoor, A., Ocoton, Y., Pines, O., and Prusky, D. 2003. External pH and nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Applied and Environmental Microbiology* 69:3258-3262.
- Dr. Duke`s, 2017. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. National Agricultural Library. Disponible en línea en <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/search>. (Fecha de consulta 26 de mayo de 2017).
- Duff J. D., 1993. The incidence of *Phytophthora* and *Pythium* species in Northern territory nurseries. *Australasian Plant Pathol.* 22:149-151.

- FAOSTAT, 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Database consulted on January 2016: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
Fecha de consulta 09 de mayo de 2017.
- Felger S. and G. Nabhan, 1979. Agroecosystem: "A model form the Sonoran Desert". In: Social and Technological Management in Dray Lands, Past and Present, Indigenous and imposed, of. AAAS. Selected Symposium, 10, 129-148.
- Freeman S., T. Katan, and E. Shabi, 1995. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from avocado and almond fruits with molecular and pathogenicity test. *Applied and Enviromental Microbiology* 62:1014-1020.
- Freeman S., T. Katan, and E. Shabi, 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for Anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*. 82: 596-605. doi:10.1094/pdis.1998.82.6.596
- Frias H., 1994. Propiedades nutritivas del aguacate. Departamento de Nutrición de GUAYAL S.A. Buenos Aires, Argentina. 12 p.
- Gamboa R., F.D. Hernández, E. Guerrero, A. Sánchez, y R. H. Lira, 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojasén (*Flourensia cernua* DC.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:13-18.
- García R., 2003. Fitoalexinas. Mecanismos de Defensa de las Platas. *Revista Chapingo*. México. 4-10p.
- Gonzalez A. A., 2004. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas.
- Gutierrez A., P. Gepts and D. G. Debouck, 1995. Evidence for two gene pools of the lima bean, *Phaseolus lunatus* L. in the Americas. *Genetic Resources and Crop Evolution* 2:15-28.

- Hardman R. A., 2005. Pathogen profile *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Plant Pathology 6: 589-604.
- Hernández A., Y. M. Ochoa, E. Cerna, J. C. Delgado, M. Beltrán, U. Flores y L. M. Tapia, 2016. *Pythium sp. amazonianum* como agente causal de la tristeza del aguacate en Peribán, Michoacán. Memoria de congreso, Revista Mexicana de Fitopatología, Vol. 34: 112. ISSN-2007-8080.
- Hernández V., Ma. Vargas, J. Muruaga, S. Hernández y N. Mayek, 2013. Origen, domesticación del frijol común avances y perspectivas. Rev. Fitotec. Mex. 36 (2): 95 – 104.
- Ho H., 1990. Taiwan *Phytophthora*. Bot Bull Academia Sinica (31): 89 – 106. Artículo *Phytophthora*: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control.
- Kern A., G. Bovermann, G. Jung, M. Wanning and H. Zahner, 1989. The Dipeptide Antibiotic N-Valyl-dihydroxyhomoproline: Isolation, Characterization, and Antimicrobial Activities. Liebigs Ann. Chem. 361 – 365.
- Kim K., J-J. Kim, Y. Jung, Ji-Y. Noh, A. Shah, C. Y. Kim, M-Y. Lee, K-M. Lim, O-N. Bae, and J-H. Chung, 2016. Cyclocurcumin, an Antivasoconstrictive Constituent of *Curcuma longa* (Turmeric). J. Nat. Prod. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00331.
- Kong P., P. A. Richardson and C. Hong, 2004. *Pythium* and recycled irrigation water. Pest and Dis. 32-35 pp.
- Laqueur G. L. y M. Spatz, 1968. "Toxicology of Cycasin". Cancer Research. 28: 2262–2267.
- Maldonado R., S. Álvarez, M.E. Almaguer, G. Barrientos, and M.R. García, 2007. Estándares nutrimentales para aguacatero "Hass". Revista Chapingo Serie Horticultura 13(1): 103-108.

- Martin F., 2009. *Pythium* Genetics, In: oomycete genetics and genomics: diversity, interactions, and research tools. Lamour, K. and Kamoun, S. (eds.). Wiley Blackwell. Estados Unidos de América. 213-239 pp.
- Martínez J., 2015. Consideraciones sobre la importancia del muestreo en los estudios de la domesticación de plantas: el caso del frijol lima (*Phaseolus lunatus*) en México. Desde el Herbario CICY 7:17-22.
- Maselli A., L. C. Rosales y Y. Guevara, 2006. Uso de extractos vegetales sobre *Xanthomonas phaseoli*, causante de la quemazón en *Phaseolus vulgaris* L. Revista Digital CENIAP HOY N° 12. Maracay, Venezuela. ISSN: 1690-4117.
- Miko P., 2004. Prescription and safety of dimethindene maleate micropellet capsules in Hungary. Orvosi Hetilap. 145(7):327-9.
- Milagrosa V. N., N. Vicente, F. Diánez, M. De Cara y J. C. Tello, 2007. Vinazas y hongos del suelo. Agroecología. 2: 39-45.
- Morales G.J.L. y P.M. E. Ángel, 2007. Hongos Fitopatógenos de Importancia Agrícola. Editorial Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México. 265 p.
- Nava E., P. Gastelum, J. R. Camacho, B. Valdez, C. Bernal y R. Herrera, 2010. Utilización de extractos de plantas para el control del gorgojo pardo *Acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol almacenado. Ra Ximhai. 6 (1): 37-43.
- Ochoa Y. M., E. Cerna, J. Landeros, O. Vázquez, V. Olalde y A. Flores, 2009. Diversidad genética de *Phytophthora cinnamomi* Rands de aguacate de Michoacán, México, por medio de RAPD Fyton 78: 25-30.
- Ochoa F, Y.M. (2006). Variabilidad Genética y Patogénica de (*Phytophthora cinnamomi* rands) en Michoacán, México. Tesis doctoral. UAAAN. 104 pp.

- Ochoa Y. M, E. Cerna, J. Landeros, S. Hernández y J.C. Delgado, 2012. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium spp.* *Fyton* 81: 69-73.
- Oliveira R., J. Moral, K. Bouhmidi y A. Trapero. (2005). Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum spp* causantes de la antracnosis del olivo. *Bol. San. Veg. Plagas* 31:531-548.
- Ortega, M. y L. Vázquez, 1993. Caracterización Físicoquímica del Aceite Crudo y Refinado de la Semilla de *Proboscidea parviflora* (uña de gato). *Grasas y Aceites* 44, 30-34.
- Ortega M., M. R. Robles y L. Vázquez, 2003. Evaluación nutricional y sensorial del aceite de *Proboscidea parviflora* (uña de gato). *Grasas y Aceites*. 54(1): 48-52.
- Paulitz T. and R. Bélanger, 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology* 39: 103-133.
- Prusky D., J. McEvoy, R. Leverentz, and W. Conway, 2001. Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence. *Phytopathology* 9:1105-1113.
- Pussa T., 2014. Principles of food toxicology. Micotoxins. CRC Press. Second edition 245-247.
- Ramírez M. R. y J. L. Jacobo, 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20: 168-173.
- Ramírez M., A. Cruz y C. Rodríguez, 2009. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *Hematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 12 (1): 69-78.

- Rangel D., I. García, J. Velasco, D. Buitrago y E. Velazco, 2001. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y acuoso de *Baccharis nítida* (Ruiz et Pavon) Pers. Revista de la Facultad de Farmacia. 42: 1-4.
- Robin C., I. Smith and E.M. Hansen, 2012. *Phytophthora cinnamomi*. Forest Phytophthoras 2(1). doi: 10.5399/osu/fp.2.1.3041.
- Rodríguez A., D. Morales y M. A. Ramírez, 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. Cultivos Tropicales 21 (2): 79-82.
- Rodríguez E.S., J.M. González y N. Mayek, 2009. La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. Revista Mexicana de Fitopatología 27:53-63.
- SAGARPA. (2015). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Social, Pesca y Alimentación. Sistema de Información agroalimentaria y pesquera. Boletín Informativo. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. (Fecha de consulta 13 de abril de 2016).
- Sánchez P.J., 1999. Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill) y especies afines en México. Rev. Chapingo Serie Horticultura 5:7-18.
- Santiago V., A. Montero, V. Ayala, C. Rodríguez y P. Sánchez, 2007. Control del hongo fitopatógeno *Pythium* spp. con monoterpenos. Agricultura sostenible. Volumen 1; Alternativas contra plagas. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, CP e ITA Tlaxcala. Montecillo, Texcoco, México. p.37-40.
- SFA-SAGARPA, 2011. Subsecretaria de Fomento a los Agronegocios y Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Social, Pesca y Alimentación. Monografía del aguacate. Documento informativo. 1-10.
- Sharief T. M. and M. M. Ail Albala, 2015. The effect of alcoholic extract of *Proboscidea parviflora* on *Fusarium oxysporum* and *Alternaria* spp. International Journal of Plant Science and Ecology 1(2): 22-25.

- Sherve, F. and I. Wiggins, 1964. Vegetation and Flora of the Sonoran Desert. Vol 1. pag. 191-194.
- SIAP, 2016. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Situación actual de aguacate en México. (Disponible en línea con actualizaciones en http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do) Fecha de consulta 09 de mayo de 2017.
- Sutton B. C., 1992. The genus *Glomerella* and its *Colletotrichum* anamorph. In: Bailey J.A., Jeger M.J. (eds) *Colletotrichum: biology, pathology and control*. CABI, Wallingford. pp. 1-28.
- Talhinhas P., S. Sreenivasaprasad, J. Neves, and H. Oliveira, 2005. Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. *Applied and Environmental Microbiology* 71:2987-2998.
- Téliz D. (2000). *El Aguacate y su manejo integrado*. Primera edición, Mundi– Prensa, México, D. F. 219 p.
- Telíz O. D. y A. A. Mora, 2007. *El aguacate y su manejo integrado segunda edición*. Editorial Mundi Prensa pp: 192-202.
- Tello M. M. L., A. Alonso, M. Sagasta y E. Azpeitia, 1995. Algunos hongos patógenos detectados en raíces de diferentes plantas ornamentales en viveros de la Comunidad de Madrid. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 21:517-526.
- TMIC, 2017. The metabolomic innovation center. (Disponible en línea con actualizaciones en <http://www.hmdb.ca/metabolites/>) Fecha de consulta 12 de mayo de 2017.
- Tequida M., M. Cortez, E. C. Rosas, S. López y C. Corrales, 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium*

expansum, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. Rev. Iberoam. Micol. 19: 84-88.

- Torres L. D., 2010. Detección de fitoalexinas en plantas de fríjol (*Phaseolus vulgaris*) en respuesta a inoculación con aislamientos de actinomicetos. Microbiología Industrial. Univ. Pontificia Javeriana, Bogota D.C.
- Uribe L. L., L. Castro, F. Arauz, C. Henríquez, M. Blanco, 2014. Pudrición basal causada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile tratadas con vermicompost. Agron. Mesoam. 25(2):243-253.
- Vidales F.J.A., R.J.J. Alcántar y C.J. Anguiano, 1994. Generación de un modelo de predicción de la roña *Sphaceloma perseae* Jenkins del aguacate *Persea americana* en Michoacán. Memorias XXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. P13.
- Villanueva R., E. Cárdenas, M. Hernández, y D. Téliz, 2004. Patogénesis de la antracnosis (*Colletotrichum fragariae*) en frutos de chirimoya. Agrociencia 40:773-782.
- Whalen M. M., S. Wilson, C. Gleghorn and B.G. Loganathan, 2003. Brief exposure to triphenyltin produces irreversible inhibition of the cytotoxic function of human natural killer cells. *Environmental Research* 92: 213-220.
- William F. E. and J. G. Niklaus, 2010. Introducción a los oomicetes. The Plant Health Instructor. DOI:10.1094/PHI-I-2012-0220-01.
- Yakoby N., I. Kobilier, A. Dinooor, and D. Prusky, 2000. pH regulation of pectate lyase secretion modulates the attack of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruits. *Applied and Environmental Microbiology* 66:1026-1030.
- Yakoby N., D. Beno I. Kobilier, and D. Prusky, 2002. The analysis of fruit protection mechanism provided by reduced-pathogenicity mutants of *Colletotrichum gloeosporioides* obtained by restriction enzyme mediated integration. *Phytopathology* 92:1196-1201.

Zamora M.T., S.E. Cárdenas, B.J.F. Cajuste y L.M.T. Colinas, 2001. Anatomía del daño por rozamiento y por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en frutos de aguacate "Hass". *Agrociencia* 35:237-244.

Zentmyer G.A, (1980). *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. Monogr. No 10. The American Phytopathological Society, St, Paul, Mn. 96 p.

ANEXOS

Tabla 15. Denominaciones para los extractos de acuerdo al solvente utilizado

NUMERO	DENOMINACIÓN	NOMBRE
1	A.R.P.p	Acuoso Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
2	A.T.P.p	Acuoso Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
3	A.H.P.p	Acuoso Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
4	A.F.P.p	Acuoso Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
5	A.V.v.P.p	Acuoso Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
6	E.R.P.p	Etanólico Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
7	E.T.P.p	Etanólico Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
8	E.H.P.p	Etanólico Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
9	E.F.P.p	Etanólico Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
10	E.V.v.P.p	Etanólico Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
11	H.R.P.p	Hexánico Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
12	H.T.P.p	Hexánico Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
13	H.H.P.p	Hexánico Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
14	H.F.P.p	Hexánico Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
15	H.V.v.P.p	Hexánico Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
16	F.A.R.P.p	Filtrado Acuoso Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
17	F.A.T.P.p	Filtrado Acuoso Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
18	F.A.H.P.p	Filtrado Acuoso Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
19	F.A.F.P.p	Filtrado Acuoso Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
20	F.A.V.v.P.p	Filtrado Acuoso Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
21	F.E.R.P.p	Filtrado Etanólico Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
22	F.E.T.P.p	Filtrado Etanólico Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
23	F.E.H.P.p	Filtrado Etanólico Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
24	F.E.F.P.p	Filtrado Etanólico Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
25	F.E.V.v.P.p	Filtrado Etanólico Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
26	F.H.R.P.p	Filtrado Hexánico Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
27	F.H.T.P.p	Filtrado Hexánico Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
28	F.H.H.P.p	Filtrado Hexánico Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
29	F.H.F.P.p	Filtrado Hexánico Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
30	F.H.V.v.P.p	Filtrado Hexánico Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
31	M.A.R.P.p	Macerado Acuoso Raíz <i>Proboscidea parviflora</i>
32	M.A.T.P.p	Macerado Acuoso Tallo <i>Proboscidea parviflora</i>
33	M.A.H.P.p	Macerado Acuoso Hoja <i>Proboscidea parviflora</i>
34	M.A.F.P.p	Macerado Acuoso Flor <i>Proboscidea parviflora</i>
35	M.A.V.v.P.p	Macerado Acuoso Vaina verde <i>Proboscidea parviflora</i>
36	A.R.P.I	Acuoso Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
37	A.T.P.I	Acuoso Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
38	A.H.P.I	Acuoso Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
39	A.S.P.I	Acuoso Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>
40	E.R.P.I	Etanólico Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
41	E.T.P.I	Etanólico Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
42	E.H.P.I	Etanólico Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
43	E.S.P.I	Etanólico Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>

44	H.R.P.I	Hexánico Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
45	H.T.P.I	Hexánico Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
46	H.H.P.I	Hexánico Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
47	H.S.P.I	Hexánico Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>
48	F.A.R.P.I	Filtrado Acuoso Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
49	F.A.T.P.I	Filtrado Acuoso Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
50	F.A.H.P.I	Filtrado Acuoso Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
51	F.A.S.P.I	Filtrado Acuoso Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>
52	F.E.R.P.I	Filtrado Etanólico Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
53	F.E.T.P.I	Filtrado Etanólico Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
54	F.E.H.P.I	Filtrado Etanólico Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
55	F.E.S.P.I	Filtrado Etanólico Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>
56	F.H.R.P.I	Filtrado Hexánico Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
57	F.H.T.P.I	Filtrado Hexánico Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
58	F.H.H.P.I	Filtrado Hexánico Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
59	F.H.S.P.I	Filtrado Hexánico Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>
60	M.A.R.P.I	Macerado Acuoso Raíz <i>Phaseolus lunatus</i>
61	M.A.T.P.I	Macerado Acuoso Tallo <i>Phaseolus lunatus</i>
62	M.A.H.P.I	Macerado Acuoso Hoja <i>Phaseolus lunatus</i>
63	M.A.S.P.I	Macerado Acuoso Semilla <i>Phaseolus lunatus</i>