

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISION DE AGRONOMIA



DEPARTAMENTO FORESTAL

**Inhibición de *Phytophthora capsici*, *In Vitro* e *In Vivo* Mediante
Extractos Vegetales.**

POR:

JORGE AUGUSTO AGUILAR DIAZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial Para

Obtener el Título de:

INGENIERO FORESTAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Septiembre de 2009.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO



DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO FORESTAL

Inhibición de *Phytophthora capsici*, *In Vitro* e *In Vivo* Mediante Extractos Vegetales.

POR:

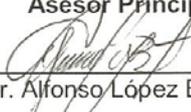
JORGE AUGUSTO AGUILAR DIAZ

Tesis

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

INGENIERO FORESTAL

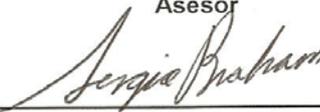
Asesor Principal


Dr. Alfonso López Benítez

Asesor


M.C. Jorge David Flores Flores

Asesor


Ing. Sergio Braham Sabag

Coordinador de la División de
Agronomía


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo


Coordinación

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México a Septiembre de 2009.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS-----	v.
DEDICATORIAS-----	vi.
INDICE DE CUADROS-----	vii.
INDICE DE FIGURAS-----	viii.
RESUMEN-----	x.
I. INTRODUCCIÓN-----	1
1.1 Antecedentes-----	1
1.2 Importancia del estudio-----	2
1.3 Planteamiento del problema-----	3
1.4 Objetivos-----	4
1.5 Hipótesis-----	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA-----	5
2.1 Descripción del hongo <i>Phytophthora capsici</i> -----	5
2.2 Importancia Económica del hongo <i>Phytophthora capsici</i> -----	5
2.3 Síntomas de la enfermedad-----	6
2.4 Ciclo de la Enfermedad-----	6
2.5 Distribución geográfica de <i>Phytophthora capsici</i> -----	8
2.6 Importancia del cultivo de chile en México-----	10
2.7 Estudios afines-----	11
III. MATERIALES Y METODOS-----	14
3.1 Materiales biológicos-----	14
3.1.1 Descripción de las especies utilizadas para la obtención de los extractos-----	14
3.2 Procedimientos experimentales-----	25
3.2.1 Etapa de laboratorio (Efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial)-----	25
3.2.2 Preparación de los extractos y medios de cultivo-----	26
3.2.3 Preparación de los medios de cultivo Agar V8 más Extracto Vegetal--- -----	27
3.2.4 Parámetro a evaluar-----	28
3.2.5 Diseño experimental-----	28
3.3 Etapa de invernadero (Efecto de los extractos <i>In Vivo</i>) -----	29
3.3.1 Localización del área de estudio-----	29

3.3.2	Material biológico utilizado-----	30
3.3.3	Descripción de los sustratos-----	30
3.3.4	Fertilizantes utilizados-----	31
3.3.5	Desarrollo del experimento-----	32
3.3.6	Preparación de los tratamientos-----	33
3.3.7	Inoculación del hongo <i>P. capsici</i> en las plantas-----	35
3.3.8	Arreglo de los tratamientos Arreglo de los tratamientos-----	36
3.3.9	Aplicación de Extractos Vegetales y Fungicida Metalaxil-----	37
3.4	Diseño experimental-----	38
3.5	Variables a medir-----	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	40
V.	CONCLUSIONES-----	61
VI.	LITERATURA CITADA-----	62

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a DIOS por haberme guiado y bendecido siempre en mi camino y darme la fortaleza espiritual, fe y esperanza para lograr mi objetivo, cuidarme a cada instante de mi vida a todo ello le doy las gracias.

Agradezco a mi “ALMA MATER” por todas esas cosas tan maravillosas que viví en mi formación profesional, y que me enorgullece por darme tanto aprendizaje, experiencias y conocimientos durante mi estancia en este nicho que todo profesional nos has brindado nada mas déjame decirte en dos palabras lo mucho que me brindaste... MUCHAS GRACIAS.

A mis profesores que siempre me dieron ese gran apoyo para ser un profesional, especialmente al Doctor Alfonso López Benítez que me brindó todo su apoyo incondicionalmente para llevar a cabo esta tesis y por todo su sabiduría y experiencia brindada.

Al Departamento Forestal que me dio su techo para poder forjarme como profesional, a los profesores que me brindaron todo su apoyo, conocimiento y se esmeraron para darme toda esa educación que nunca se me olvidara.

Al MC Jorge David Flores Flores por su ayuda en esta investigación, colaborando como uno de mis asesores de antemano le doy las gracias.

Al Ing. Sergio Braham Sabag que con su disponibilidad me enriqueció aportando en esta investigación todo sus atenciones necesarias y comprensión en todo momento.

A mis demás profesores del Departamento Forestal que durante mi formación profesional siempre dieron todo su esfuerzo para que comprendiera los conocimientos básicos en cada materia y me enseñaron a ser un buen profesional.

Al Departamento de Fitomejoramiento por brindar sus instalaciones y su apoyo para poderse llevar a cabo esta Investigación, al señor José Nicasio que con su ayuda incondicional siempre me brindó su apoyo en la realización de esta TESIS como encargado del Invernadero No. 7 Del Departamento de Fitomejoramiento.

A mis amigos de la generación CVI de la carrera de Forestal, que con su comprensión y amistad siempre estuvieron a mi lado estarán siempre en mi presente, les agradezco infinitamente todo su amor brindado, especialmente a Elmer (Meno), y a Guillermo (Tucuch), gracias amigos por brindar esa linda amistad.

A mis carnales-amigos que siempre considere eso les agradezco profundamente todo su apoyo brindado estos amigos nunca los olvidare especialmente a: Abel (kynky), Adrián (muégano), Edwin (rummy), Humberto (Negro), José (kupa), José Manuel (Chus Balal), Pedrito (Perro) y a Vicente

(chentol), gracias por considerarnos parte de una gran familia, también a los familiares de estos grandes amigos les agradezco mucho. Y a mis demás amigos del Estado de Chiapas que si los menciono no me alcanzaría estas hojas.

DEDICATORIAS

Primeramente agradezco a Dios nuestro señor que desde del cielo siempre bendijo mi sendero y me bendijo a cada instante de mi estancia en la Universidad y hasta hoy en día, te agradezco mucho que me hallas cuidado de esas cosas malas que existen en este mundo.

A mis padres: Sr. Agustín Aguilar Pérez (+) y Sra. Teresa Del Carmen Díaz Coutiño, que siempre me guiaron por un buen camino y me dieron todo su apoyo incondicionalmente y que me forjaron a ser un buen profesionista y me motivaron a seguir a delante con esta formación académica, que Dios los Bendiga Siempre... los quiero mucho.

A mis abuelos de ambos padres que con sus experiencias siempre me dieron apoyo y comprensión con esa gran experiencia que ellos nos invocan. Especialmente a mis abuelitos Ricardo Del Transito Díaz Coello y Emma Rebeca Coutiño Montoya que siempre me hacen sentir parte como un miembro mas de sus hijos les agradezco infinitamente todo ese gran apoyo que me brindaron emocionalmente y que de antemano les agradezco muchísimo nunca los olvidare.

A mis tíos (as) que a pesar de estar a distancias larga me dieron su fraternal apoyo y mi sintieron estar cerca de ellos, especialmente a mi tío Oliver Díaz Coutiño, que siempre ha significado una persona muy especial en mi vida y me ha enseñado muchas cosas hermosas de la vida, a mis primos (as), y demás amigos del pueblo que formamos parte de este mismo ámbito Académico les agradezco mucho. A mi mejor amiga del alma que siempre me brindo su apoyo incondicionalmente le agradezco mucho y que formas en mi vida muchos recuerdos hermosos gracias Cè.

A mis hermanos: Al Ing. Edgar Luis Aguilar Díaz que con su sabiduría y apoyo siempre estuvo a mi lado en las buenas y en las malas y que pasamos buenos momentos en nuestra carrera profesional, A mis hermanitas Ma. Rebeca Y Ma. Guadalupe Aguilar Díaz por su apoyo y ayuda incondicionalmente siempre estuvieron a mi lado en toda circunstancia de mi vida, a mis sobrinitos Zahory, Jonathan y a mi sobrinita Mileny que son unos seres maravillosos y que forman parte de mi, los quiero y espero que a futuro sean grandes profesionistas y algún día logren tener grandes ventajas sobre la vida, y a mis cuñados Edilber y Grisel por darme a esos niños tal lindos, no me queda otra cosa que decir... GRACIAS FAMILIA...

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. El orden de los tratamientos, con respecto a concentraciones, muestreos y repeticiones.

Cuadro 2. Formulas de los Fertilizantes, Fungicidas, Insecticidas y Foliares utilizados en el experimento.

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos y con la concentración respectiva.

Cuadro 4. Escala de evaluación de enfermedad de Glosier *et al.* (2007), transformada y multiplicado al 20%.

Cuadro 5. Análisis de Varianza para el desarrollo micelial de *Phytophthora capsici* *In Vitro*.

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial del micelio de *Phytophthora capsici* por ocho extractos acuosos y los testigos Metalaxil-M y Agar V8.

Cuadro 7. Análisis de Varianza para efectos de los extractos sobre incidencia de enfermedad en plántulas de chile previamente inoculadas con *Phytophthora capsici*.

Cuadro 8. Prueba de rango por el Método de Tukey.

Cuadro 9. Efecto de tres concentraciones de extractos (0.5 %, 1.0 % y 2.0 %) en el desarrollo promedio de la enfermedad en cuatro plántulas, causada por *P. capsici* en plántulas de chile susceptible a través de cuatro evaluaciones tomadas cada dos días.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Estadios de *Phytophthora capsici*.
- Figura 2.** Árbol de *Melia azedarach*.
- Figura 3.** Semilla de *Melia azedarach*.
- Figura 4.** Planta de *Rosmarinus officinalis*.
- Figura 5.** Planta de *Solanum torvum*.
- Figura 6.** Planta de *Allium sativum*.
- Figura 7.** Planta de *Zingiber officinale*.
- Figura 8.** Planta de *Syzygium aromaticum*.
- Figura 9.** Planta de *Larrea tridentata*.
- Figura 10.** Planta de *Capsicum annuum*.
- Figura 11.** Evaluación del diámetro del desarrollo micelial de *Phytophthora capsici*.
- Figura 12.** Vista interior del Invernadero del Departamento de Fitomejoramiento.
- Figura 13.** Establecimiento del experimento.
- Figura 14.** Preparación del Inoculo en Laboratorio.
- Figura 15.** Inoculación del hongo *Phytophthora capsici* en las plantas de *Capsicum annuum*.
- Figura 16.** Aplicación del extracto vegetal del ajo a la concentración del 1%.
- Figura 17.** Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 48 h de incubación del hongo.
- Figura 18.** Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones, sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 96 h de incubación del hongo.
- Figura 19.** Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones, sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 144 h de incubación del hongo.
- Figura 20.** Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 0.5% de concentración.
- Figura 21.** Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de sosa al 0.5% de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M.

Figura 22. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 1.0 % de concentración.

Figura 23. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de sosa al 1.0% de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M.

Figura 24. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 2.0 % de concentración.

Figura 25. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de sosa al 2.0 % de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M.

Figura 26. Comparación entre los Tratamientos de: Testigo Agua Destilada, ajo 2% y Fungicida Metalaxil.

Figura 27. Comparaciones entre el testigo Agua Destilada, Metalaxil y Sosa al 2%.

RESUMEN

Bajo condiciones In Vitro, se evaluó el efecto inhibitorio de los extractos vegetales de: *Allium sativum* (ajo), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Syzygium aromaticum* (clavo), *Melia azedarach* (lila), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Zingiber officinale* (jengibre), *Solanum torvum*. (sosa), se utilizó agar bacteriológico y un ingrediente químico Metalaxil, sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora capsici* In Vitro, el fungicida Metalaxil inhibió el crecimiento en la primera y segunda evaluación al 100 %, ya que en la tercera evaluación disminuyó un 2 % dando un resultado de 98.21 %, a lo contrario de los extractos de clavo y jengibre que en sus tres periodos de evaluación inhibieron el crecimiento micelial al 100 %, comparado al de gobernadora que en su primera evaluación inhibió el crecimiento al 100 %, y tuvo disminución en la segunda y tercera evaluación en la concentración del 3 %, el testigo no mostró ninguna inhibición al ser comparados con los extractos, los otros extractos como la sosa y la semilla y hoja de lila solo fueron buenos inhibidores en su concentración del 9 % y los demás fueron insignificativos.

Se demostró In Vivo, se demostró que cuatro extractos vegetales arrojaron excelentes resultados practicando el procedimiento del Área Bajo la Curva de Progreso de Enfermedad (ABCPE) demostraron que la severidad de *P. capsici* fueron menores al ser comparados con el testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil, que mediante el ABCPE la severidad a la enfermedad fueron muy altas. Dando como resultado final que las concentraciones del 0.5%, 1.0% y 2.0% en sus diferentes etapas de evaluación en lo que se refiere a la severidad de la enfermedad mostraron que los extractos vegetales resultaron ser superiores al daño causado por *P. capsici* ser comparados con el testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil.

Palabras claves: *Phytophthora capsici*, *Capsicum annum*, extractos vegetales, Concentraciones.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En la agricultura moderna, se le ha dado poco interés a la sostenibilidad de la productividad. El uso de agroquímicos ha permitido obtener alta productividad en el campo, pero con ello se presentan también nuevos problemas que ponen en riesgo la sostenibilidad de la agricultura.

En general los movimientos de agricultura alternativa buscan volver a la agricultura natural orientando la producción hacia un sistema diversificado, que no por ser natural es menos complejo o requiere menos desarrollos tecnológicos y científicos.

El Consejo Nacional de investigación en Agricultura de la Academia de Ciencias de Estados Unidos, determinó que los agroquímicos constituyen el 60 % de los pesticidas usados en la producción de alimentos con riesgos oncogénicos por lo que su uso debe ser restringido. (Wilson y Wisniewski 1992)

La industria de los pesticidas agrícolas tuvo como base en su inicio la utilización de extractos de plantas como el tabaco, el crisantemo y el timbó. A pesar del limitado desarrollo de las investigaciones realizadas en esta área, Grainge y Ahmed (1988), demostraron que existen alrededor de 2,400 especies de plantas con propiedades contra plagas agrícolas incluyendo desde malezas y roedores hasta ácaros, insectos, nematodos, hongos, bacterias. El control de fitopatógenos del suelo es difícil de lograr, incluso tiene un costo elevado, ya que implica el desarrollo de nuevos pesticidas. (Zavaleta 1987).

Antón *et al.* (1987), mencionan que se han investigado una gran cantidad de familias de compuestos químicos, cada uno con su casi infinita variedad de constituyentes; sin embargo, solo se conoce la actividad biológica potencial de una pequeña parte de ellos y eso referido únicamente a sus propiedades farmacológicas, siendo más dramático el desconocimiento en cuanto a su uso agrícola. Por lo anterior, es necesario conocer los efectos que los extractos producen sobre fitopatógenos del suelo.

Por eso, es prioritaria la búsqueda de alternativas de manejo de plagas y enfermedades de menor costo y menor impacto ambiental, pero con la misma efectividad. (Montes-Belmont 1996).

Los residuos y extractos vegetales con propiedades antimicrobianas pueden tener un papel importante en un sistema ecológico integrado de producción agrícola para el control de enfermedades, o bien, pueden ser parte complementaria en la agricultura convencional. (Campos *et al.* 1994; García y Montes-Belmont 1992; Montes-Belmont y Sandoval-García 1990; Zavaleta-Mejía 1999)

1.2 Importancia del estudio

Los extractos vegetales son de suma importancia para el sector agrícola y que han jugado un papel importante como proveedores de bienes y servicios para la población rural para solventar las necesidades que se tienen en la agricultura que está caracterizada por los más profundos niveles de marginación social y económica.

Es de gran importancia llevar a cabo este tipo de estudios sobre la idoneidad de los extractos vegetales como alternativas de control de fitoparásitos, así como probar nuevos experimentos que puedan servir para este fin, además de tratar de minimizar daños ecológicos al obtenerlos y así tener los mejores resultados en nuestros planes, es prioridad la búsqueda de alternativas de manejo de plagas y enfermedades de menor costo y menor impacto ambiental, pero con la misma efectividad. (Montes-Belmont 1996)

Actualmente México continúa observando una estrategia de desarrollo basado en el fortalecimiento de la industria del petróleo de otras industrias como el acero, maquinaria pesada, cemento, etc. Sin tomar en cuenta el vasto potencial de recursos naturales que le permitiría promover una industria manufacturera y de bienes de consumo básico. En este grupo destacan por su importancia y valor económico los recursos naturales. (Serrano 1983)

Es por esta razón que se viene reconociendo cada vez más a los recursos naturales, ya que cumplen una función protectora y restauradora de la tierra, así mismo, proveen de una gran cantidad de bienes y servicios que nuestra sociedad demanda. (FAO 1976)

Por otra parte existen varios problemas en el contexto de los recursos naturales y uno de los más importantes son las plagas y enfermedades, la cual es causada por varios factores como la necesidad de los campesinos por abrir terrenos para dedicarlos a la agricultura y a la ganadería.

1.3 Planteamiento del problema

El chile (*Capsicum annum*) es uno de los cultivos con mayor tradición en Mesoamérica, ya que constituye un elemento básico dentro de la dieta de la población. Sin embargo, los rendimientos en México son bajos, debido en gran parte al ataque por agentes fitopatógenos, siendo *Phytophthora capsici* uno de los más importantes, ocasionando pérdidas entre 60-100% por la enfermedad conocida como “marchites del chile”. (Bustamante, 1993).

(<http://members.tripod.com/~sociedad/resumen22.html>).

De acuerdo con diferentes autores como Campos *et al.* (1994); García y Montes-Belmont (1992); Montes-Belmont y Sandoval-García (1990); Zavala-Mejía (1999), aseguran que la utilización de alternativas de control de enfermedades no contaminantes es de suma importancia para lograr una eficiente producción agrícola sin el deterioro ambiental, con productos agrícolas y alimentos mas saludables, sin afectar la productividad y la calidad de los mismos. Los residuos y extractos vegetales con propiedades antimicrobianas pueden tener un papel importante en un sistema ecológico integrado de producción agrícola para el control de enfermedades, o bien, pueden ser parte complementaria en la agricultura convencional, ya que las plantas son una fuente potencial de productos químicos naturales, algunos con función fungicida, y que pueden explotarse con éxito. (Campos *et al.* 1994)

Ante tal situación se planteó el presente trabajo con los siguientes propósitos:

1.4 Objetivos

Objetivo general:

Coadyuvar a la evaluación de extractos vegetales para el control potencial de la pudrición del chile causada por el hongo *Phytophthora capsici*.

Objetivos específicos:

1. Determinar el efecto de ocho extractos vegetales sobre el crecimiento micelial del hongo *Phytophthora capsici* bajo condiciones de *In Vitro*.
2. Determinar el efecto preventivo de los extractos sobre plántulas de chile inoculadas con el hongo.

1.5 Hipótesis

Ho: Todos los extractos vegetales tienen la misma capacidad de inhibir el crecimiento micelial radial del hongo *Phytophthora capsici*.

Ha: Al menos un extracto vegetal es diferente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción del hongo *Phytophthora capsici*

Phytophthora capsici es un hongo habitante del suelo que puede sobrevivir como saprofito, pero se vuelve parasítico en presencia de hospedantes susceptibles. En tejidos infectados en descomposición lenta o en el suelo aparece en forma de estructuras de resistencia. Es un patógeno altamente devastador de los cultivos de chile, pero causa serios daños en un amplio número de especies hortícolas. (Avelar y Marbàn 1989).

El desarrollo de la enfermedad depende de las condiciones ambientales y de la cantidad de inóculo presente en el suelo. La época seca, con tiempo soleado e irrigación por surcos, que genere un nivel freático alto favorece la producción de esporangios y su posterior invasión de las plantas.

En cultivos bajo riego, el factor más importante para el desarrollo de la enfermedad es la humedad en el área cercana a la base del tallo. La producción de esporangios en tejidos infectados ocurre en suelos cuyos contenidos de humedad varían entre la capacidad de campo y el punto de saturación. El riego se considera uno de los principales medios de diseminación, porque facilita la diseminación de las zoosporas. (Redondo 1974).

La interacción entre las especies *C. annuum* y *P. capsici* es muy compleja complicando el mejoramiento genético para resistencia.

2.2 Importancia Económica del hongo *Phytophthora capsici*

En general las solanáceas son sensibles a *Phytophthora capsici*. Este patógeno puede causar graves daños a los campos sobre todo si ataca a nivel de raíces porque puede perderse toda la plantación.

En condiciones favorables puede causar pérdidas económicas devastadoras al afectar del 60 al 100% de la superficie cultivada. Actualmente existen en México regiones en donde se tienen pérdidas hasta del 80% y Estados como Aguascalientes y San Luis Potosí donde la superficie de siembra de chile se ha reducido un 60% por causa de este problema. (Pérez *et al.* 1990)

2.3 Síntomas de la enfermedad

Phytophthora capsici ataca las hojas, cuello, raíces, tallos y frutos. Primero se observa un marchitamiento de las hojas sin cambios en su color, las cuales finalmente quedan colgadas de los pecíolos. En la base del tallo aparece una mancha marrón verdusca, que se ennegrece de acuerdo con el grado de necrosis de los tejidos y lignificación de la planta. Las raíces y tallos afectados muestran una pudrición suave, acuosa e inodora. Los frutos anticipan su cambio a color rojo y se arrugan.

La enfermedad es más severa en suelos arcillosos y poco en suelos arenosos, afecta principalmente las raíces y la base del tallo de la planta, aunque también puede atacar las partes aéreas. Los tallos continúan erguidos con las hojas colgantes y los frutos secos y arrugados. El síndrome se origina por la obstrucción de los haces vasculares en el cultivo de chile, la incidencia de la enfermedad marchite del chile causada por el hongo oomiceto *Phytophthora capsici*, constituye a nivel nacional, uno de los principales problemas que afectan la productividad del cultivo en campo, además de estos síntomas se puede observar en el mismo lote manchones de plantas con amarillamiento, defoliación, caída de flores y finalmente muerte de la planta. (Avelar y Marbán 1989).

2.4 Ciclo de la Enfermedad

Las oosporas y clamidosporas son las estructuras de conservación que se encuentran en los rastrojos y malezas. Las oosporas con humedad germinan y forman zoosporangios y esas zoosporas son las que causan el problema en la planta. *Phytophthora* no necesita de heridas para ingresar a las células de la planta (penetra directamente), una vez dentro de ellas causa pudriciones en el tejido y forman micelios, estos micelios son las estructuras vegetativas que van a dar origen a la formación de zoosporangios y oosporas.

2.5 Distribución geográfica de *Phytophthora capsici*

Esta enfermedad se encuentra presente en todo el mundo. En México se le considera la enfermedad más importante de este cultivo causada por hongos, se ha reportado su presencia en todos los estados productores de chile donde las condiciones ambientales favorecen su desarrollo, particularmente en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Sinaloa, Sonora Chihuahua, Querétaro, Hidalgo y Michoacán. (Redondo y García *et al.* 2000; 1974; Guigon y González 2001)

Epidemiología y estrategias de control

Se puede transmitir con el agua de riego y lluvias. *Phytophthora capsici* requiere de alta humedad y altas temperaturas. Le favorecen un mal drenaje del suelo y la temperatura óptima es de 26-30°C. El desarrollo de la enfermedad depende de las condiciones ambientales y de la cantidad de inóculo presente en el suelo. La época seca, con tiempo soleado e irrigación por surcos, que genere un nivel freático alto favorece la producción de esporangios y su posterior invasión de las plantas.

En cultivos bajo riego, el factor más importante para el desarrollo de la enfermedad es la humedad en el área cercana a la base del tallo. La producción de esporangios en tejidos infectados ocurre en suelos cuyos contenidos de humedad varían entre la capacidad de campo y el punto de saturación. El riego se considera uno de los principales medios de diseminación de la enfermedad, porque facilita la diseminación de las zoosporas. En áreas dedicadas al cultivo del chile en Costa Rica, a pesar de que existen condiciones de temperaturas altas, la enfermedad afecta sólo la base del tallo y no se manifiesta en el follaje. (FAOSTAT 2006).

Medidas de control

Control preventivo cultural:

- a. Buena preparación de terreno
- b. Eliminación de rastrojos de cosechas anteriores
- c. Nivelación del terreno
- d. Aplicación de materia orgánica al suelo para mejorar su estructura
- e. Menor longitud de surco para reducir los problemas de *Phytophthora*
- f. Rotación de cultivos
- g. Elección de semilla sana
- h. Aporques

Control preventivo químico: Aplicaciones de

- a. Propamocarb
- b. Fosetyl-al
- c. Metalaxil

(<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=339>)

Control genético:

- a. Uso de variedades resistentes
- b. Uso de variedades resistentes como estrategia complementaria de control

Se han demostrado que los extractos vegetales pueden ser de gran utilidad para el control de fitoparásitos en la agricultura moderna, sin los problemas de contaminación que generan las metodologías convencionales.

2.6 Importancia del cultivo de chile en México

México destaca a nivel mundial por tener la mayor variabilidad genética de *Capsicum annuum*, que ha dado origen a un gran número de variedades o tipos de chiles, entre los que destacan el serrano, jalapeño, ancho, pasilla, guajillo y de árbol.

En algunos estados del país se destinan superficies al cultivo del chile para deshidratado, principalmente, y en otros se destinan principalmente para producto fresco y encurtido.

(http://www.inforural.com.mx/producto.php?&id_rubrique=17&id_article=7381)

México es, también, uno de los principales productores de chiles en el mundo, el consumo de chiles por persona es mayor al consumo de arroz y de papa. En 2001 se registró un consumo Per Cápita de 8.7 kilogramos; esto representa un incremento del 17.6% de 1980 a la fecha. El chile verde sigue siendo, junto con el maíz y el frijol, una importante fuente de alimentación para la población.

El cultivo del chile se ha extendido a todo el territorio nacional, ubicándose las regiones desde altitudes a nivel del mar hasta aquellas que se cultivan a una altura de 2500 msnm, sin embargo, ha sido esta gran diversidad de variedades, regiones, productores, etc., lo que ha imposibilitado que se pueda contar hoy en día, con estadística por variedad de chile.

(http://www.conaproch.org/ch_estadisticas_produccion.htm#mundial)

2.7 Estudios afines

López *et al.* (2005), evaluaron el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), gobernadora (*Larrea tridentata*), hojaseñ (*Flourensia cernua*), clavo (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y mango (*Mangifera indica*), sobre *Fusarium* sp. *Lycopersici*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae* y observaron que el fungicida Tiabendazol utilizado como testigo a una concentración de 600 ppm, inhibió por completo el crecimiento de *Fusarium oxysporum lycopersici* (F.o.l), *Rhizoctonia solani*; en *Verticillium dahliae* la inhibición vario de 80.7 % a 90 % con 144 y 72 h de incubación, respectivamente, y fue superado por los extractos de clavo en sus dos concentraciones (5 y 10 %).

El extracto de clavo en sus dos concentraciones inhibió el 100 % del crecimiento de los tres hongos después de 72 h de incubación. Excepto *V. dahliae* con 144 h de incubación, todos los extractos mostraron la tendencia a incrementar su efecto inhibitorio con el aumento de la concentración dentro del mismo periodo de incubación, y a reducirlo al incrementar el periodo de incubación dentro de la misma concentración. Los extractos con el mayor efecto inhibitorio sobre las tres especies de hongos fueron el Clavo, Ajo y Gobernadora.

Gamboa *et al.* (2003), extrajeron la resina de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Sóxhlet, para evaluar su efecto en el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* *In Vitro*. El solvente del extracto se preparó usando un rotavapor y se seco la resina a temperatura ambiente. Luego, las resinas de cada extracto se disolvieron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, preparándose cinco dosis. Para cada patógeno, se incluyo el respectivo testigo químico en la dosis recomendada (tolclofos-metil y metalaxil). Después de depositar el inóculo a manera de explantes, las cajas petri se incubaron durante 96 h a 25° C en ausencia de luz; las lecturas se realizaron a las 48 h y 96 h usando un vernier. Los resultados expresados en porcentaje de inhibición fueron aceptables para los tres extractos sobre *R. solani*, mostrando un efecto fungistático hasta la dosis de 20,000 ppm. Para el caso de *P. infestans* se obtuvieron valores altamente significativos al obtenerse que el extracto de *O. majorana* presento un efecto fungicida desde la dosis de 8,000 ppm; mientras

que los extractos *F. cernua* y *B. ternifolia* mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas.

Montes R. *et al.* (1990), probaron extractos acuosos de 74 especies de plantas (hortalizas, ornamentales, frutales, medicinales, forestales y arvenses) para determinar su posible influencia en su germinación de urediosporas de *Uromyces phaseoli* var. *Typica* Arth. Veinticuatro de las especies vegetales inhibieron entre 70 y 100% la germinación de las urediosporas; de estas plantas se seleccionaron 14 para determinar el espectro de acción inhibidora de sus extractos sobre la germinación de las esporas de 14 hongos fitopatógenos de diferentes grupos taxonómicos y hospederos. Los resultados mostraron una diversidad de respuestas de los fitopatógenos: *Alternaria cucumerina*, *Erysiphe polygoni*, *Fusarium sp.* Y *Puccinia sorghi* la germinación fue inhibida por la mayoría de los extractos; en cambio en *Peicillium sp.* Hubo estimulación en su germinación por casi todos los vegetales: *Stemphylium sp.* No respondió a los extractos con excepción del Ajo que lo inhibió y el resto de los hongos presento una respuesta intermedia. De todos los extractos el Ajo inhibió a todos los fitopatógenos probados y el resto de los extractos actuó contra varias especies de hongos.

Vargas *et al.* (1998), evaluaron la presencia de aflatoxinas en alimentos elaborados a partir de granos y cereales, ya que es uno de los más serios problemas de calidad para los productores de alimentos y representa un riesgo para la salud. La actividad fungicida y antiaflatoxigenica de extractos obtenidos de cinco plantas colectadas en el Noroeste de Sonora, se estudiaron contra *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, hongos productores de aflatoxinas que tienen un alto potencial para contaminar granos y cereales. La actividad fungicida de los extractos fue evaluada sobre agar papa dextrosa (PDA). La actividad antiaflatoxigenica se evaluó sobre medio líquido, sacarosa magnesio, potasio extracto de levadura (SMKY). De los diez extractos estudiados destaca el efecto del extracto obtenido con diclorometano de Gobernadora (*Larrea tridentata*) que inhibió en 92% y 86% el crecimiento de *A. flavus* y *A. parasiticus*, respectivamente. Los extractos metanólicos tuvieron poco efecto sobre el crecimiento de ambos hongos. El extracto de Epazote rojo (*Chenopodium ambrosioides*) obtenido con diclorometano eliminó en 100% la producción de aflatoxinas de *A. parasiticus*. La actividad fungística y

antiaflatoxigenica que presentaron los extractos de *L. tridentata* y *Ch. ambrosioides* en este estudio, indica que el uso de material vegetal es un medio adecuado para la búsqueda de nuevos compuestos fungicidas naturales.

Montes *et al.* (1996), hicieron un análisis bibliográfico de la importancia de las plantas como fuente de productos metabólicos para el combate de fitopatógenos. Se describen algunos conceptos generados de los avances de investigación logrados y se mencionan aspectos metodológicos para el estudio de las plantas con uso potencial contra fitopatógenos como: selección de las especies de plantas, la producción de principios activos, el procesamiento de las plantas, los bioensayos y el manejo de los extractos vegetales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales biológicos

3.1.1 Descripción de las especies utilizadas para la obtención de los extractos

***Melia azedarach* (Lila)** Tanto las hojas como las semillas fueron obtenidas de plantas silvestres que crecen en los alrededores de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Clasificación científica de *Melia azedarach* (lila)

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Sapindales*

Familia: *Meliaceae*

Género: *Melia*

Especie: *M. azedarach*



Figura 2. Árbol de *Melia azedarach*.

Nombre comunes en español: Lila, paraíso sombrilla, Árbol del paraíso, Cinamomo, Melia, Árbol Santo, Mirabobo, etc. Nombres en inglés: chinaberry tree, persian lilac, bead tree. Esta especie es nativa del sureste asiático, se difundió a mediados del siglo XIX como ornamental en Sudáfrica y América.

Es un árbol mediano, de 8 a 15 m de altura, con el fuste recto; la copa alcanza los 4 a 8 m de diámetro, de forma globosa. Las hojas son caducas, alternas, compuestas, con pecíolos largos, imparipinnadas, de 25 a 80 cm de longitud; los folíolos son ovales, acuminados, de 2 a 5 cm de largo, de color verde oscuro por el haz y más claro en el envés, con el margen aserrado; amarillean y caen a comienzos del otoño.

Uso de *Melia azedarach*

Su valor en jardinería debe compensarse con especial atención a su fruta, que es sumamente tóxica para el humano y otros mamíferos, aunque las aves la resisten (de hecho, constituye parte esencial de la dieta de la catita). Contiene neurotoxinas, en especial tetranortriterpeno; 0,66 g de fruta por kg pueden matar a un mamífero adulto. Los frutos, flores, hojas, y corteza poseen propiedades insecticidas por la presencia de dos alcaloides, paraisina y azadiractina; productos que se han estado utilizando para el control de plagas en los granos almacenados. Los animales que ingieran algunos frutos pueden morir en un lapso de 24 horas. La semilla madura es de forma ovalada y de color negro, de unos 7 mm de largo. Para obtener nuevas plantas se pueden macerar los frutos y extraer las semillas para hacer siembra directa o plantar los frutos enteros.

El fruto es una drupa globosa de color amarillo, de 1-1,5 cm de diámetro, pueden verse durante todo el invierno en el árbol, cuando éste no tiene hojas, son venenosos para las personas y algunos animales, excepto para las aves.

(Wikipedia, 2009) (http://es.wikipedia.org/wiki/Melia_bot%C3%A1nica)

(http://es.wikipedia.org/wiki/Melia_azedarach)



Figura 3. Semilla de *Melia azedarach*.

***Rosmarinus officinalis* (romero)** Las hojas y tallos de esta especie fueron obtenidos de uno de los mercados que lo comercializa en la ciudad de Saltillo.

Clasificación científica de *Rosmarinus officinalis* (romero)

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*.

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Subclase: *Asteridae*.

Orden: *Lamiales*.

Familia: *Lamiaceae*.

Subfamilia: *Nepetoideae*.

Tribu: *Mentheae*.

Género: *Rosmarinus*.

Especie: *officinalis*.



Figura 4. Planta de *Rosmarinus officinalis*

Nombres comunes: Romero, romero del llano, romerillo.

El *romero*, es una especie del género *Rosmarinus* cuyo hábitat natural es la región mediterránea del sur de Europa, norte de África y también en Asia Menor. Es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, puede llegar a medir 2 metros de altura. Las hojas, pequeñas y muy abundantes, presentan forma linear. Son opuestas, sésiles, enteras, con los bordes hacia abajo y de un color verde oscuro, mientras que por el envés presentan un color blanquecino y están cubiertas de vello. En la zona de unión de la hoja con el tallo nacen los ramilletes floríferos.

Composición química

Ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, rosmarínico), Flavonoides (derivados del luteol y del epigenol), Aceite esencial (pineno, canfeno, borneol, cineol, alcanfor, limoneno) 1,2 a 2%, Diterpenos (carnosol, rosmanol, rosmadial), Ácidos triterpénicos (ácido ursólico) 2 a 4%, Alcoholes triterpénicos (alfa y beta-amirina, betulósido). (Wikipedia, 2009) (<http://es.wikipedia.org/wiki/Romero>)

***Solanum torvum* (sosa)** Se utilizaron especialmente las hojas de esta especie, fueron obtenidas de plantas silvestres que crecen en algunas regiones del Municipio de Venustiano Carranza, Chiapas, México.

Clasificación científica de *Solanum torvum* (sosa)

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Solanales.

Familia: Solanaceae.

Subfamilia: Solanoideae.

Tribu: Solaneae.

Género: Solanum.

Especie: torvum.



Figura 5. Planta de *Solanum torvum*.

Nombres comunes: sosa, Berenjena cimarrona, Berenjena de gallina, Berenjena silvestre, Tabacón, Pendejera, Tomatillo, Friega platos. Nombres en inglés: Devil's fig, turkeyberry, prickly solanum, Thai eggplant.

La hierba sosa o pendejera (*Solanum torvum*) Es un Arbusto, generalmente con un tallo en la base, que luego se ramifica. Puede alcanzar un tamaño de hasta 2.5 m de alto. Es una planta perenne usada en horticultura como rizoma para la berenjena. La planta injertada es más vigorosa y es inmune a las enfermedades de la raíz. El arbusto tiene una altura de 2-3 metros y generalmente un solo tallo a nivel del suelo. Las ramas son gris-verde con pelusas. Las hojas están enfrentadas y son lobuladas. Las flores son blancas agrupadas en corimbos. Los frutos son bayas de color amarillo cuando maduran y contienen numerosas semillas. Aunque muchos campesinos también la utilizaban como afrodisíaco.

Las ramas jóvenes están cubiertas de pelos ramificados (estrellados), horizontales, sésiles o estipitados; además las ramas que portan las inflorescencias pueden presentar algunas espinas gruesas, rectas o recurvadas, de hasta 1 cm de largo; corteza gris.

Las hojas son alternas, generalmente en pares desiguales (la pequeña de la mitad o menos de la longitud de la grande), ampliamente ovadas, de hasta 20 cm de largo y hasta 15 cm de ancho, más o menos puntiagudas, márgenes raramente enteros.

Componentes químicos y toxicidad

Contiene solanina, un esteroide y saponina, clorogenina y colecalciferol, un veneno usado para roedores (fuente). Las raíces contienen un alcaloide como la jurubina.

(Wikipedia, 2009) (http://es.wikipedia.org/wiki/Solanum_torvum)

***Allium sativum* (ajo)** De ésta especie las partes de la planta utilizadas fueron los “dientes” obtenidos de comercios en la ciudad de Saltillo.

Clasificación científica de *Allium sativum* (ajo)

Reino: *Plantae*.

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Liliopsida*.

Orden: *Asparagales*.

Familia: *Alliaceae*.

Género: *Allium*.

Especie: *sativum*.

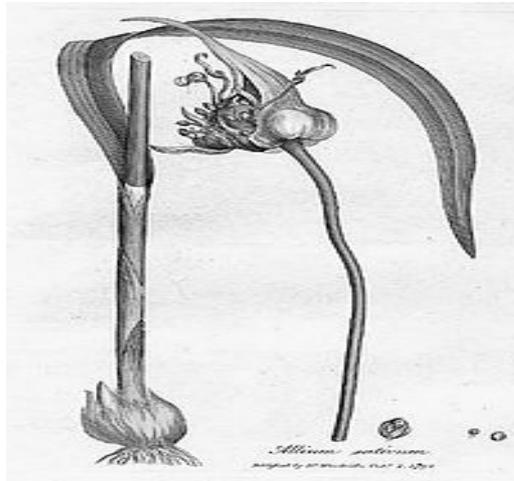


Figura 6. Planta de *Allium sativum*

Nombres comunes: Castellano: aja, ajo, ajo andaluz, ajo blanco, ajo castañuelo, ajo castellano, ajo común, ajo común y hortense que se come, ajo cultivado, ajo diego, ajo doméstico, ajo morado, ajos, ajo sanjuanero, ajo silvestre, ajos porros, rocambola. Nombre en inglés: Garlic.

El ajo es una planta perenne de la familia de la cebolla. Las hojas son planas y delgadas, de hasta 30 cm de longitud. Las raíces alcanzan fácilmente profundidades de 50 cm o más. El bulbo, de piel blanca, forma una cabeza dividida en gajos comúnmente llamados dientes. Cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes.

En la actualidad, el ajo es una medicina naturista y tiene una amplia utilización farmacológica. Es eficaz como antibiótico, combatiendo numerosos hongos, bacterias y virus.

Componentes químicos

De acuerdo a los efectos medicinales buscados, varía la forma en que deben ser ingeridos, ya que el ajo posee diferentes propiedades crudo o cocido. Cuando el ajo crudo es cortado o machacado, se produce la combinación de la alina con la alinasa, lo que produce una sustancia denominada alicina.

Ésta tiene varios efectos benéficos, en cambio si el ajo es cocinado, este compuesto se destruye. En el proceso de cocción se liberan compuestos diferentes, como la adenosina y el ajoeno, que poseen cualidades anticoagulantes y se supone que reducen el nivel de colesterol.

La alicina tiene como principal compuesto el sulfuro de hidrógeno el cual facilita la distensión de las membranas celulares vasculares disminuyendo de este modo la presión sanguínea y favoreciendo la circulación y el transporte de oxígeno. (Wikipedia, 2009) (<http://es.wikipedia.org/wiki/Ajo>)

***Zingiber officinale* (jengibre).** Las partes de esta especie utilizadas fueron los rizomas obtenidos de establecimientos comerciales en la ciudad de Saltillo.

Clasificación científica del *Zingiber officinale* (jengibre)

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Liliopsida.

Orden: Zingiberales.

Familia: Zingiberaceae.

Subfamilia: Zingiberoideae.

Tribu: Zingibereae.

Género: Zingiber.

Especie: officinale.



Figura 7. Planta de *Zingiber officinale*.

Nombres comunes en español: cañacoros, jengibre, Kion; Valenciano: Gíngebre; Gallego: xenxibre; Vasco: Zingiber; Nombres en Inglés: Ginger.

El jengibre es una planta de la familia de las zingiberáceas, cuya raíz está formada por rizomas horizontales muy apreciados por su aroma y sabor picante. La planta llega a 90 cm de altura, con largas hojas de 20 cm. Crece en todas las regiones tropicales del mundo. Las variedades más caras y de mayor calidad

generalmente proceden de Australia, India y Jamaica, mientras que las más comercializadas se cultivan en China.

Su nombre viene del sánscrito sinabera, que significa «formado como un cuerno».

Usos terapéuticos

En investigaciones médicas se ha comprobado que la raíz de jengibre es un efectivo tratamiento contra las náuseas causadas por los mareos en medios de transporte, así como las padecidas por las mujeres embarazadas. No se le conoce efecto teratogénico por eso es segura en embarazos. El jengibre contiene propiedades antioxidantes que comúnmente usan los químicos antioxidantes. "El jengibre en un sin numero de estudios es calificado de poseer un índice inhibidor-radical libre quizá mucho mas grande que los preservativos antioxidantes comerciales BHA y BHT.

(Wikipedia, 2009)

(<http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros35es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros> - 35k)

***Syzygium aromaticum* (clavo).** Las partes de las plantas de esta especie que se utilizaron fueron los botones florales secos y se obtuvieron de establecimientos comerciales que lo expenden en Saltillo.

Clasificación Científica de *Syzygium aromaticum* (clavo)

Reino: *Plantae*.

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Orden: *Myrtales*.

Familia: *Myrtaceae*.

Género: *Syzygium*.

Especie: *aromaticum*.



Figura 8. Planta de *Syzygium aromaticum*.

Nombres comunes: clavo de olor, Árbol del clavo, clavo de especia. Nombre en inglés: Clove.

El clavo de olor son los brotes secos aromáticos de las flores del árbol del clavo de esta especie perteneciente a la familia Myrtaceae. Es nativo de Indonesia y es usado como especia en las cocinas de todo en mundo. El nombre deriva de la palabra francesa "Clou"(clavo) ya que los brotes guardan un parecido con los objetos -usados en carpintería para unir madera- llamados así. Los clavos son cosechados principalmente en Indonesia y en Madagascar, también crece en Zanzíbar, India, y en Sri Lanka.

Usos

Los clavos son usados en la cocina enteros o molidos pero, como son extremadamente fuertes, se usan en poca cantidad. Se han identificado compuestos activos como el eugenol responsable del aroma en el aceite esencial y su contenido varia de 72-90%. El Eugenol tiene pronunciadas propiedades antisépticas y anestésicas. (Wikipedia, 2009) (<http://es.wikipedia.org/wiki/Clavo>)

***Larrea tridentata* (gobernadora)** Las partes de esta especie de planta fueron las hojas. Se obtuvieron de poblaciones de plantas silvestres que crecen en los alrededores de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Clasificación Científica de *Larrea tridentata* (gobernadora)

Reino: *Plantae*.

Division: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Orden: *Zygophyllales*.

Familia: *Zygophyllaceae*.

Genero: *Larrea*.

Especie: *tridentata*.



Figura 9. Planta de *Larrea tridentata*.

Nombres comunes en español: Gobernadora, (Estados del Noreste de México); Guamis, Hediondilla, Huamis, Háaxat, Háajat, Jarilla (Rep. Mex.). Nombre en inglés: Creosote bush, greasewood.

La gobernadora es una de las especies más importantes en la vegetación natural de los desiertos mexicanos. Pero, también habita sitios perturbados y muchos potreros de estas zonas áridas. Su hábito y forma de vida son un arbusto siempre verde, aromático con olor a creosote (especialmente cuando húmedo), llega a alcanzar una altura de hasta 4 m. Su tallo es muy ramificado desde cerca de la base (sin un tronco bien definido).

Sus hojas son opuestas, cortamente pecioladas a casi sésiles, compuestas de 2 hojitas (llamadas folíolos) asimétricas unidas entre sí hacia la base, puntiagudas, correas, lustrosas, de color verde oscuro a verde-amarillento, resinosas, de hasta 1 cm de largo, con pelillos. Flores solitarias de alrededor de 2.5 cm de diámetro; sépalos 5, desiguales, de 5 a 8 mm de largo.

Hábitat

Es una especie dominante en la vegetación de desiertos y zonas áridas, incluyendo sitios perturbados, comunidades y plantas o animales asociadas.

Es una planta nodriza y de sombra importante para muchos animales y plantas en el desierto. Su propagación, dispersión y germinación se reproduce por semillas (evento raro) y vegetativamente.

Uso y Toxicidad

La creosota Bush (designado chaparral cuando está utilizado como un remedio herbario) es ampliamente utilizada como un suplemento herbario y fue utilizada por los nativos americanos en el suroeste como una protección solar eficaz y antioxidante potente para el tratamiento del envenenamiento de la sangre y de las enfermedades hepáticas.

Los estudios clínicos de los compuestos en esta planta han verificado ambos la eficacia de las plantas en tratar estos desordenes, así como su toxicidad a las células de hígado humanas.

(Wikipedia, 2009).

(<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/zygophyllaceae/larrea-tridentata/fichas/ficha.htm>).

Metalaxil M. Fungicida utilizado como testigo, fue preparado de acuerdo a las indicaciones de 1gr por litro y se mantuvo en un frasco de 1000 ml.

Nombres comunes: Fungicida Ridomil bravo.

(Wikipedia, 2009)

(<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=339>)

(<http://www.ine.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/pdf/metalaxil.pdf>)

***Capsicum annuum* (planta de chile)** esta planta fue sembrada en el invernadero, sirvió como hospedante para inocular al hongo *P. capsici*.

Clasificación científica de la especie hospedante chile (*Capsicum annuum*)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: Capsicum

Especie: annuum



Figura 10. Planta de *Capsicum annuum*.

Nombres popularmente conocido en México: Ajís, bixo, bolas, chil, chile (fruto), chiles, chili del pico, coralé, guinda, guinda de tomatillo. Nombres en ingles: Chile Pepper.

El Chile *Capsicum annuum* puede ser anual, bianual, o vivir varios años. Mientras que la especie puede tolerar la mayoría de los climas, es especialmente productiva en zonas cálidas y climas secos.

La planta, de tallo leñoso, forma normalmente un arbusto de hasta 15 dm de altura; algunas variedades alcanzan tamaños superiores.

Las flores son blancas o verdosas en la mayoría de las variedades, salvo en el *C. pubescens*, en que tienen un color violáceo. El fruto —técnicamente una baya— varía en coloración y tamaño de acuerdo a la variedad; puede ser cúbico, cónico o esférico.

(Wikipedia, 2009) (http://es.wikipedia.org/wiki/Capsicum_annuum)

3.2 Procedimientos experimentales

Este experimento se realizó en dos etapas, la primera de laboratorio donde se hicieron las evaluaciones de los extractos *In Vitro*, y la segunda en invernadero para realizar las evaluaciones *In Vivo*.

Los aislamientos se purificaron e identificaron con base a la morfología característica de de los esporangios de *Phytophthora* y se preservaron en arena estéril para mantener su patogenicidad. Previo a su utilización, fueron incrementadas en medios de cultivo Agar V8.

3.2.1 Etapa de laboratorio (Efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial)

La primera etapa se realizó en el laboratorio de patosistemas agrícolas del Departamento de Fitomejoramiento de La Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN). Ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

3.2.2 Preparación de los extractos y medios de cultivo

Las especies objeto de estudio fueron: *Allium sativum* (ajo), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Syzygium aromaticum* (clavo), *Melia azedarach* (lila), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Zingiber officinale* (jengibre), *Solanum torvum* (sosa), se utilizó Agar Bacteriológico y un ingrediente químico Metalaxil.

La preparación de los extractos se hicieron en agua desionizada de acuerdo a Montes y Peralta (1993) y López *et al.* (2005), para lo cual se lavaron las plantas en agua corriente y agua destilada; después, se secaron a la sombra y se separaron las partes de las plantas a utilizar. Éstas se limpiaron y deshidrataron colocándolas en una incubadora de convección por gravedad (Precision Scientific Modelo J1755- 1A), a una temperatura de $60 \pm 2^\circ \text{C}$ hasta obtener su peso constante. Posteriormente se licuaron con una licuadora (OSTERIZER Modelo 465-43 m. 440 Watts), hasta obtener un polvo fino que se pasó por una malla (Alsa) del número 20 con orificios de 0.84 mm de diámetro.

Los extractos se prepararon en concentraciones de 3,6 y 9%, para lo cual se pesaron cantidades de 3,6 y 9 grs. de polvo de cada especie y se colocaron en vasos de precipitado Pyrex de 250 ml de capacidad, conteniendo el primero 91 ml de agua desionizada y 9 grs. de polvo para la solución de 9 %, 94 ml de agua desionizada y 6 grs. de polvo para la solución al 6%, y 97 ml de agua desionizada mas 3 grs. de polvo para la solución al 3 %, se agitaron por 15 min. En un agitador de laboratorio de plato caliente (Corning modelo PC-620) y se dejaron luego en refrigeración a una temperatura de $4 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 hrs., con la finalidad de extraer al máximo el ingrediente activo de cada especie de extracto (esto se realizó con las 8 especies vegetales, excepto el noveno que es el Metalaxil que es el producto químico).

Cada extracto se pasó por papel filtro Watman WL No. 1 para eliminar residuos de tejido vegetal que pasaron a través de la malla utilizada. Los extractos obtenidos en sus tres concentraciones, se utilizaron directamente para preparar el medio de cultivo Agar V8 en los que se sembró un disco del hongo *Phytophthora capsici*, por lo que no fue necesario esterilizarlos previamente. Como testigos se incluyeron el fungicida Metalaxil en una concentración de 600 ppm y el medio de cultivo Agar V8 sin extracto ni fungicida.

3.2.3 Preparación de los medios de cultivo Agar V8 más Extracto Vegetal

Se preparó el Agar Nutritivo marca BD Bioxon, luego se le agregó jugo de verduras V8, posteriormente se obtuvo 80 ml de extracto vegetal. Este procedimiento se llevó a cabo para cada extracto vegetal, para después mezclarlos y meterlos al Autoclave con 15 milibares de presión durante 15 minutos, de este resultado obtenido se pasó a cajas petri obteniendo cuatro repeticiones por cada extracto vegetal, el testigo solo se tomó como una repetición, así como de igual forma para el fungicida Metalaxil, después de 24 h. se le agregó a estos medios de cultivo el hongo *Phytophthora capsici*. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Orden de los tratamientos, con respecto a concentraciones, muestreos y repeticiones.

	PRIMERA EVALUCION			SEGUNDA EVALUCION			TERCERA EVALUCION		
	CONCENTRACION			CONCENTRACION			CONCENTRACION		
Extractos	3%	6%	9%	3%	6%	9%	3%	6%	9%
Govern.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Clavo	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Jengibre	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Sosa	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Sem. Lila	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Romero	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Hoja Lila	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Ajo	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.	4 rep.
Metalaxil	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.
Testigo Agarv8	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.	1 rep.

Origen de la cepa del hongo utilizada

La especie de fitopatógeno que se utilizó fue *Phytophthora capsici*, se aisló de plantas de Chile con síntomas característicos de la enfermedad conocida como "Marchites del Chile". Las plantas fueron obtenidas de lotes comerciales productores en el estado de Aguascalientes. El hongo se aisló sembrando pequeñas secciones del tejido infectado de las plantas de Chile en cajas de petri conteniendo Agar V8.

3.2.4 Parámetro a evaluar

Las evaluaciones se realizaron midiendo en centímetros con una regla graduada, se evaluó el crecimiento radial del micelio de *Phytophthora capsici* en cada medio de cultivo más extracto, agar V8 y el fungicida Metalaxil. Para esto, en el fondo de la caja petri se trazaron una línea horizontal y otra vertical, sobre las cuales se midió cada 48 h el crecimiento radial del micelio del hongo. Este crecimiento se transformó a porcentaje con respecto al crecimiento en el testigo constituido por el medio de cultivo Agar V8 sin extracto y sin fungicida.

3.2.5 Diseño experimental

El presente trabajo se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial de 8x3 para cada Concentración de los extractos, donde el factor A estuvo constituido por los extractos, testigo y el fungicida Metalaxil, y el factor B por las concentraciones, se realizaron cuatro repeticiones por cada concentración y cada tratamiento y los dos testigos; la de Agar V8 y el fungicida Metalaxil.

Donde

Y_{ijkl} = Respuesta obtenida de la l -ésima repetición del i -ésimo tratamiento de la j -ésima concentración de la k -ésima evaluación.

T_i = Al efecto del i -ésimo tratamiento.

D_j = Al efecto de la j -ésima concentración.

E_k = Al efecto de la k -ésima evaluación.

TD_{ij} = Al efecto atribuido de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y el la j -ésima concentración.

TE_{ik} = Al efecto atribuido de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y la k -ésima evaluación.

EE_{ijkl} = Error Experimental.

El modelo estadístico de este experimento fue el programa de SAS (Statistical Analysis Systems)

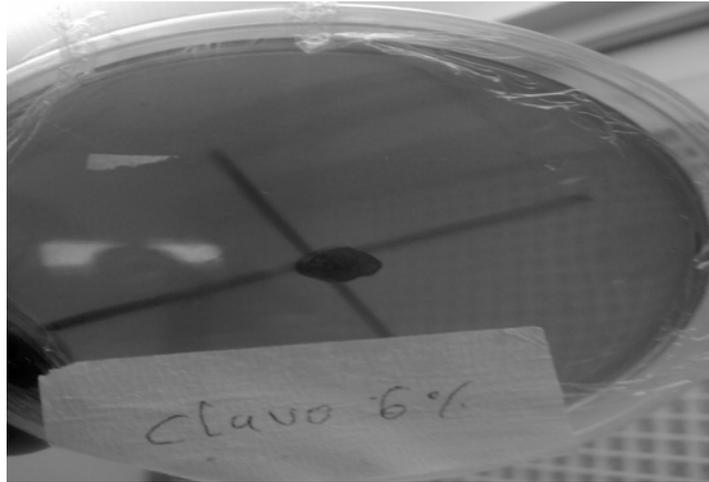


Figura 11. Evaluación del diámetro del desarrollo micelial de *Phytophthora capsici*.

3.3 Etapa de invernadero (Efecto de los extractos *In Vivo*)

3.3.1 Localización del área de estudio

El presente trabajo se llevo a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" ubicada a 7 Km. al sur de la ciudad de Saltillo, el invernadero utilizado fue el No. 7 correspondiente al Departamento de Fitomejoramiento, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, cuyas coordenadas geográficas son de 25° 22" Latitud Norte y 101° 01" Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich, con una altura de 1743 m.s.n.m. (Figura 12)



Figura 12. Vista interior del Invernadero del Departamento de Fitomejoramiento.

Condiciones de Invernadero

El invernadero cuenta con un total de 24 camas con las medidas de 3 m. de largo por 1.2 m de ancho cada una. Tiene una orientación de Norte a Sur y cuenta con un diseño en forma de capilla, cobertura con material conocido como fibra de vidrio. En este experimento solo se utilizó una cama, ubicada a un extremo derecho del invernadero.

3.3.2 Material biológico utilizado

Para esta parte del experimento se utilizó la variedad susceptible de Chile jalapeño 15.M.E.T. del campo Experimental de Ébano, S.L.P.

Se sembraron en una charola de unicel de aprox. 200 cavidades para poder germinar y ser fácil su manejo, se dieron mantenimiento como es la fertilización, riego semanal, aplicación de agroquímicos para no tener plagas y enfermedades, o agentes que pudieran provocar daño al cultivo.

3.3.3 Descripción de los sustratos

Peat moss: El “musgo sphagnum” es el componente básico del material a utilizarse en los recipientes para el cultivo de especies forestales u hortícolas. El “peat moss” o turba es un término general o global para muchos componentes separados, incluyendo turba natural de juncio, turba tipo humus y muchas otras mezclas de que se dispone comercialmente.

Perlita: La perlita es otro agente de volumen de ligerísimo peso usualmente granular, que se obtiene del calentamiento de la lava triturada. Se obtienen gránulos estériles similares a esponjas que retienen de 3 a 4 veces su peso en agua y tienen un valor de P.H. de 6.0 a 8.0.

3.3.4 Fertilizantes utilizados

Los fertilizantes, fungicidas, insecticidas y foliares utilizados que se ocuparon para la conservación de las plantas y su debida manipulación contra cualquier organismo que produjera algún daño a nuestro cultivo de *Capsicum annum* se presenta en el siguiente Cuadro 2.

Cuadro 2. Formulas de los Fertilizantes, Fungicidas, Insecticidas y Foliares utilizados en el experimento.

Fertilizantes	Dosis Recomendada.
Quelato de Hierro	28 gr.
Urea 14	gr.
Fosfato de Amonio	28 gr.
Sulfato de Potasio	84 gr.
Sulfato de Magnesio	84 gr.
Sulfato de Amonio	28 gr.
Sulfato de Manganeso	28 gr.
Nitrato de Calcio	280 gr.
Pizca de Bórax	(Lo que agarre en los tres dedos).
Estos componentes químicos son para preparar 200 Litros de Agua.	
Fungicidas	
Ridomil	3 gr. /1 Lt De Agua.
Tecto	1 gr. /1 Lt De Agua.
Insecticidas	
Confidor	1 cm ³ /1 Lt. De Agua.
Karate	1 cm ³ /1 Lt. De Agua.
Cazador	1.5 cm ³ /1 Lt. De Agua.
Adherente: Pegodol	1 cm ³ /1 Lt. De Agua.
Foliares	
Agrofol	6 gr. /1 Lt De Agua.

Todas estas actividades se llevaron a cabo en el proceso para la obtención de las plantas en Invernadero, para poder llevarse a cabo las inoculaciones del hongo *Phytophthora capsici* y poder manipular su enfermedad.

Especie de Hongo a utilizar

Para este experimento obtendremos inóculos ya preparados para ser llevados al invernadero, posteriormente ser inocular a las plantas y en este caso se utilizó el hongo *Phytophthora capsici*.

3.3.5 Desarrollo del experimento

Preparación de camas

La preparación de las camas consistió en lavar con agua, jabón y cloro las camas de cemento con el propósito de desinfectarlas eliminando agentes patógenos que se pueden encontrar en ese momento, posteriormente inocular las plantas de *P. capsici* y no encontrar otros patógenos que nos causen daños posteriores, ya que el objetivo principal es tener presente el hongo que se desea estudiar. Estas camas tienen aproximadamente 3 m. de largo y 1.2 m. de ancho, y se localizan en el invernadero No. 7 correspondiente a Investigaciones del Departamento de Fitomejoramiento de la "UAAAN".

Establecimiento del experimento

Este experimento se llevo a cabo colocando las macetas en las camas, quedando 5 hileras, con espacio de 10 cm. por cada maceta y 15 cm. entre hileras. (Figura 13)



Figura 13. Establecimiento del experimento.

3.3.6 Preparación de los tratamientos

Colecta de plantas utilizadas como extractos

Larrea tridentata (gobernadora), fue recolectada alrededor de la reforestación de la "UAAAN", *Allium sativum* (ajo), *Syzygium aromaticum* (clavo), fueron compradas en supermercados de la ciudad de Saltillo, ya que es una especie que no se tienen su procedencia original, y *Solanum torvum* (sosa), esta planta fue recolectada en el Municipio de Venustiano Carranza, Chiapas, el fungicida Metalaxil fue adquirida en la misma bodega donde se prepararon los mismos extractos y el testigo Agua Destilada.

Preparación de los extractos

Este procedimiento ya está explicado en el apartado.

3.2.2 Preparación de los extractos y medios de cultivo, donde se explica de cómo se obtuvieron los tratamientos para poder llevar a cabo en el invernadero.

Cabe mencionar que en este apartado se menciona que se preparó para las diferentes concentraciones del 3 %, 6 % y 9 %, pero que en nuestro primer experimento no funcionó, por lo que se procedió a bajar la concentración quedando de la siguiente manera 0.5 %, 1.0 % y 2 %, nada más se procedió a bajar la concentración hasta obtener la deseada como se menciona anteriormente.

Preparación del fungicida Metalaxil

Este tratamiento fue fundamental para poder ser comparado con los demás tratamientos, tanto este fungicida como los extractos vegetales se observaron su posible efecto sobre el hongo *Phytophthora capsici*.

El fungicida Metalaxil fue preparado de acuerdo a las indicaciones que se establecen en las instrucciones del mismo producto, donde se especifica que la solución es 250 gr. para 100 lts de agua, por lo que necesitábamos para 1 litro, entonces se tuvo que convertir estos 250 gr. Y dándonos un resultado de: 0.025 gr. De Metalaxil por 1 litro de agua.

Preparación del Inóculo

La preparación del inóculo se llevo a cabo en el laboratorio mediante la metodología de acuerdo a Ristaino *et al.* (1990), se dio el mantenimiento para poder prepararlo y posteriormente se llevo al invernadero donde estas fueron inoculadas a las plantas.

El hongo que se utilizo fue *P. capsici* se cultivo en Agar V8, en cajas de petri de 9 cm diámetro durante 5 días. Después de aparecer los micelios, los cuales fueron colocados en 20 ml de agua destilada en una caja petri agregándoles 10 discos de hongo de *Phytophthora capsici* y se dejó reposar 72 h. al Incubador Automático con CO₂ y Humedad Controlada, a una temperatura de 25 °C para inducir la formación de esporangios, luego se transfirió al refrigerador a una temperatura de ± 10 °C durante un periodo de 60 Minutos, y posteriormente se regreso al Incubador Automático con CO₂ y Humedad Controlada, a una temperatura 25 °C durante 90 minutos para la liberación de zoosporas.

Al realizarse estos pasos, se obtuvieron inóculos listos para poder llevarlos al invernadero y posteriormente ser inocularlos a las plantas de *Capsicum annum*. (Figura 14)

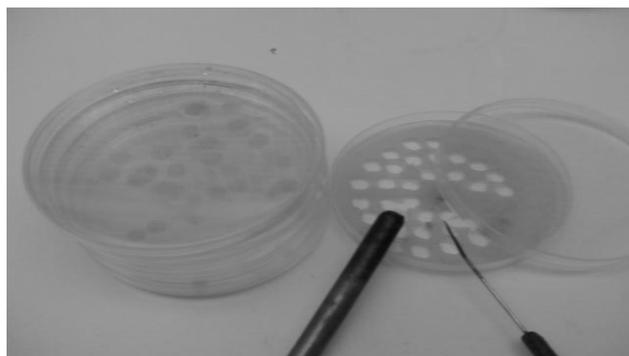


Figura 14. Preparación del Inoculo en Laboratorio.

3.3.7 Inoculación del hongo *P. capsici* en las plantas

Al tener preparado el hongo en las cajas petri, se obtuvieron 12 cajas petri y se mezclaron en un litro de agua, después se procedió a que las plantas se sacaron de las macetas para hacerse un corte en la raíz, esto para poder facilitar la entrada del hongo, poder manifestarse y dañar a la planta, y posteriormente volverlos a colocar en las macetas y con el mismo sobrante de esa solución del hongo se procedió a regarlas para así obtener una buena contaminación de las macetas, después de realizarse este procedimiento con todos los tratamientos se procedió a agregarles los extractos vegetales a cada concentración correspondientes, a cada tratamiento y con su respectiva repetición, para el tratamiento del fungicida Metalaxil solo se procedió a agregar la concentración recomendada en la etiqueta del mismo producto comercial del Metalaxil.

Después de haberse inoculadas las plantas, se procedió a agregar 50 ml de extracto vegetal para cada concentración, tratamiento y repetición, tanto los extractos vegetales, como el Testigo Agua Destilada y el Metalaxil fueron agregados a las plantas a cada 2 días.

Las evaluaciones se hicieron cada 48 horas, tomando 4 lecturas mediante la escala de 0 a 5 cuando empiezan a aparecer los síntomas de *Phytophthora capsici* (Cuadro 4), propuesta por Glosier *et al.* (2007), (Figura 15).



Figura 15. Inoculación del hongo *Phytophthora capsici* en las plantas de *Capsicum annum*.

Considerando que las concentraciones de 3 %, 6 %, y 9 % resultaron ser fitotóxicas, ya que si se pudo observar a simple vista que las plantas fueron dañadas por la concentración de los extractos vegetales y no por el hongo de *P. capsici*, el experimento se repitió utilizando ahora solo los extractos de *Allium sativum* (ajo), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Syzygium aromaticum* (clavo), y *Solanum torvum* (sosa) que mostraron menor efecto fitotóxico. Como testigos se utilizaron el fungicida Metalaxil y agua Destilada.

3.3.8 Arreglo de los tratamientos

Estos tratamientos se llevaron a cabo en macetas de 250 cm³, fueron llenados con Peat moss aproximadamente 190 grs. y 30 grs. de Perlita, después se sembraron las plantas inoculadas de *Phytophthora capsici*.

Por lo tanto quedaron de la siguiente manera (cuadro 3)

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos y con la concentración respectiva.

Tratamientos	Extractos	Concent.	Concent.	Concent.
T1=	Ajo	0.5 %	1.0 %	2.0 %
T2=	Clavo	4 rep	4 rep	4 rep
T3=	Gobernadora	4 rep	4 rep	4 rep
T4=	Sosa	4 rep	4 rep	4 rep
T5=	Testigo AD.	4 rep	4 rep	4 rep
T6=	Metalaxil	4 rep	4 rep	4 rep

Por lo tanto, si es un Nivel (0.5, 1.0 y 2.0 %); son 4 extractos vegetales y 2 Testigos, y 4 repeticiones y cada repetición es representada por 1 planta para cada tratamiento, se tiene un total de 18 macetas, y con un total de 72 plantas utilizadas.

3.3.9 Aplicación de Extractos Vegetales y Fungicida Metalaxil

Se prepararon las concentraciones correspondientes a cada tratamiento (0.5, 1.0 y 2.0 %), incluyendo a los dos testigos (el fungicida Metalaxil y el testigo Agua Destilada que no tiene ningún producto que pueda controlar al hongo), todos los tratamientos se conservaron en refrigeración para no que no tuvieran problemas de descomposición por parte de los extractos vegetales hasta antes de la primera aplicación. Después se sacaron por un rato a temperatura ambiente para que al momento de la aplicación no afectara la frialdad sobre el hongo y sobre todo a las plantas; al tener preparado las macetas con sus materiales de Peat moss y Perlita se procedió a inocular las plantas como se menciona anteriormente y plantarlos en las macetas con sus respectivos tratamientos y repeticiones, después se procedió la aplicación de los extractos vegetales a cada tratamiento con su respectiva repetición, luego se aplicaron 50 ml. De cada extracto y cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, este procedimiento se hizo después de haberse inoculado las plantas.

Para determinar el efecto de los extractos vegetales sobre el control de *Phytophthora capsici* se hizo lo siguiente:

La segunda aplicación se efectuó a los dos días de haberse inoculado, se tomo la primera evaluación mediante la escala propuesta por Glosier, *et al.* (2007), después se hicieron las aplicaciones siguientes a cada dos días y se tomaron dos evaluaciones mas, la cantidad que se aplicaron a cada uno de los tratamientos (incluyendo al fungicida), fue de 50 ml. Utilizando vasos de precipitado de 250 ml; esta cantidad es la misma para cada una de las concentraciones de los extractos vegetales, así como también para los dos testigos Metalaxil y Agua Destilada se aplicaron también como los extractos a cada 48 horas, esto se tenia planteado hacerse semanalmente dichas aplicaciones, pero al verse que la severidad del hongo era muy agresivo se realizaron a cada 48 horas como ya se planteo anteriormente. (Figura 16)



Figura 16. Aplicación del extracto vegetal del Ajo a la concentración del 1%.

3.4 Diseño experimental

El presente trabajo se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial de 4x3 para cada concentración de los extractos, donde el factor A estuvo constituido por los extractos, testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil, y el factor B por las concentraciones, se realizaron cuatro repeticiones por cada concentración de los 4 extractos y uno para el testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil.

Donde

Y_{ijkl} = Respuesta obtenida de la l -ésima repetición del i -ésimo tratamiento de la j -ésima concentración de la k -ésima evaluación.

T_i = Al efecto del i -ésimo tratamiento.

D_j = Al efecto de la j -ésima concentración.

E_k = Al efecto de la k -ésima evaluación.

TD_{ij} = Al efecto atribuido de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y el la j -ésima concentración.

TE_{ik} = Al efecto atribuido de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y la k -ésima evaluación.

EE_{ijkl} = Error Experimental.

El modelo estadístico de este experimento fue el programa de SAS (Statistical Analysis Systems)

3.5 Variables a medir

Las variables que se evaluaron fueron conforme a la misma escala propuesta por Glosier *et al.*, (2007). (Cuadro 4)

Cuadro 4. Escala de evaluación de enfermedad de Glosier *et al.* (2007), transformada y multiplicado al 20%.

0	Planta sana sin síntomas de la enfermedad
20	Amarillamiento de las hojas sin necrosis de tallo
40	Ligera necrosis del tallo
60	Moderada necrosis del tallo y ligero marchitamiento
80	Severa necrosis del tallo y severo marchitamiento, plantas aún vivas
100	Plantas muertas

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa I. Laboratorio (*In Vitro*)

El análisis de varianza para el efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento del micelio de *P. capsici In Vitro*, indicó diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$), para extractos, concentraciones y periodos de incubación; así como para la interacción extractos por concentraciones, extractos por periodos de incubación y extractos por concentraciones por periodos de evaluación. (Cuadro 5)

Cuadro 5. Análisis de Varianza para el desarrollo micelial de *Phytophthora capsici In Vitro*.

F.V.	GL	S.C.	C.M.	F
Extractos	9	863.574	95.952	560.08**
Concentraciones	2	72.412	36.2061	211.34**
Periodos Incubación	2	172.375	86.187	503.08**
Extractos x concentración	14	53.872	3.8480	22.46**
Extractos x Periodo x Evaluación	18	124.432	6.9128	40.35**
Extr. x concent. X periodo x eval.	32	18.223	0.5694	3.32**
E.E.	234	40.088	0.171	
Total	311	1344.979		

** Altamente significativo a 0.01.

Todos los extractos tuvieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento del micelio del hongo en el medio de cultivo Agar V8 (Cuadro 5), con excepción del periodo de incubación de 144 h, el Metalaxil, como era de esperarse, el Metalaxil-M inhibió en un 100 % el crecimiento del micelio del hongo, en tanto que el testigo Agar V8 no lo inhibió en lo absoluto.

Los extractos de clavo, gobernadora y jengibre presentaron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento del micelio de *Phytophthora capsici* estadísticamente igual ($p < 0.01$) al del Testigo Agar V8 y Metalaxil-M en las tres concentraciones y durante los tres periodos de incubación del hongo.

El efecto inhibitorio de los extractos de gobernadora ha sido demostrado en mayor o menor grado sobre un amplio espectro de fitopatógenos, entre las que se encuentran *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dhaliae* y *R. solani* con un rango de inhibición variable. Sin embargo, en el presente trabajo su efecto sobre *P. capsici* fue estadísticamente igual ($p < 0.01$) al fungicida Metalaxil-M. Los extractos de gobernadora. (López *et al.* 2005)

El extracto de *Syzygium aromaticum* al igual que el extracto de *Zingiber officinale*, también mostró una inhibición de 100 % en todos los tratamientos, Los extractos de los rizomas de esta planta han mostrado una alta actividad antimicrobial contra Salmonelas y moderada actividad contra *Listeria monocytogenes*, así como una importante actividad contra *R. solani*. (Manjree-Agarwal *et al.*, 2001). El extracto de *Syzygium aromaticum* mostró el mayor efecto inhibitorio sobre *P. capsici* en las tres concentraciones y durante los tres periodos de incubación. Esta alta efectividad de los extractos de clavo ha sido observada también en una diversidad de especies de hongos como *Botrytis cinérea*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Eurotium repens*. (López *et al.*, 2005). El resto de los extractos mostraron un importante efecto inhibitorio sobre el desarrollo del micelio de *P. capsici*, el cual fue significativamente inferior a los tratamientos anteriores, pero fue influenciado por las concentraciones y los periodos de incubación. Solo *Solanum torvum* resultó estadísticamente igual ($p < 0.01$) al Metalaxil-M a la concentración de 9 % en los tres periodos de incubación. Los extractos metanolicos de *Solanum torvum* han mostrado un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra aislamientos bacteriales de humanos y animales y aislamientos de hongos fitopatógenos. En términos generales, los extractos de *Solanum torvum*, *Melia azedarach*, *Rosmarinus officinalis* y *Allium sativum* mostraron la tendencia a incrementar su efecto inhibitorio al incrementar la concentración de los extractos dentro del mismo periodo de incubación, así como a disminuirlo al incrementar el periodo de incubación con la misma concentración del extracto. Aunque los extractos de *Melia azedarach*, tanto de semilla como de hoja, en general resultaron significativamente iguales ($p < 0.01$) tuvieron una actividad inhibitoria parcial, al igual que ha sido descrita para *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola* y *Alternaria solani* en medio papa-dextrosa. (Manjree-Agarwal *et al.* 2001)

De acuerdo con Barni *et al*, (2009), evaluaron la eficiencia antibacteriana de un extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* que contiene altas concentraciones de polifenoles antioxidantes, en dos modelos de infección en piel de ratón: superficial y subcutáneo contra la bacteria patógena *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos muestran que el extracto de romero que contiene 2,3% de polifenoles bioactivos presentó una acción bacteriostática contra *S. aureus*.

Para el extracto de *Allium sativum* se observó una actividad antifúngica variable que alcanzó máximo de 93 % a la concentración de 9 % y 48 h de incubación. Es sabido que los extractos de *Allium sativum* tienen un amplio rango de actividad antimicrobial contra una gran diversidad de especies de hongos. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Porcentaje de inhibición promedio del crecimiento radial del micelio de *Phytophthora capsici* por ocho extractos vegetales y los testigos Metalaxil-M y Agar V8.

PERIODOS DE INCUBACIÓN Y CONCENTRACIONES DE EXTRACTOS

Extractos	48 h			96 h			144 h		
	CONCENTRACION			CONCENTRACION			CONCENTRACION		
	3%	6%	9%	3%	6%	9%	3%	6%	9%
Gobernador a	100 a	100 a	100 a	95.7 ab	100 a	100 a	93.3 a	100 a	100 a
Clavo	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Jengibre	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Sosa	84.3 bcd	88.2 abc	100 a	73.9 cd	73.0 cd	96.9 ab	61.9 cd	72.1 bc	85.7 ab
Semilla lila	77.5 cde	80.7 bcd	92.1 ab	56.4 efg	64.8 def	81.4 bc	26.2 fg	45 e	72.7 bc
Romero	77.5 cde	80.7 bcd	78.2cd e	51.4 fgh	63.7 def	69.1 cde	28.9 f	48.0 de	55.7 de
Hoja lila	80.3 bcd	81.0 bcd	89.6 abc	44.3g h	42.8 gh	74.8 cd	15.4 fgh	10.4 h	53.0 de
Ajo	65.3 e	71.4 de	92.7 ab	37.5 h	40.0 h	77.5 cd	13.6 gh	12.5 gh	50.7 de
Metalaxil	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	98.21 4a	100 a	100 a
Testigo Agar V8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

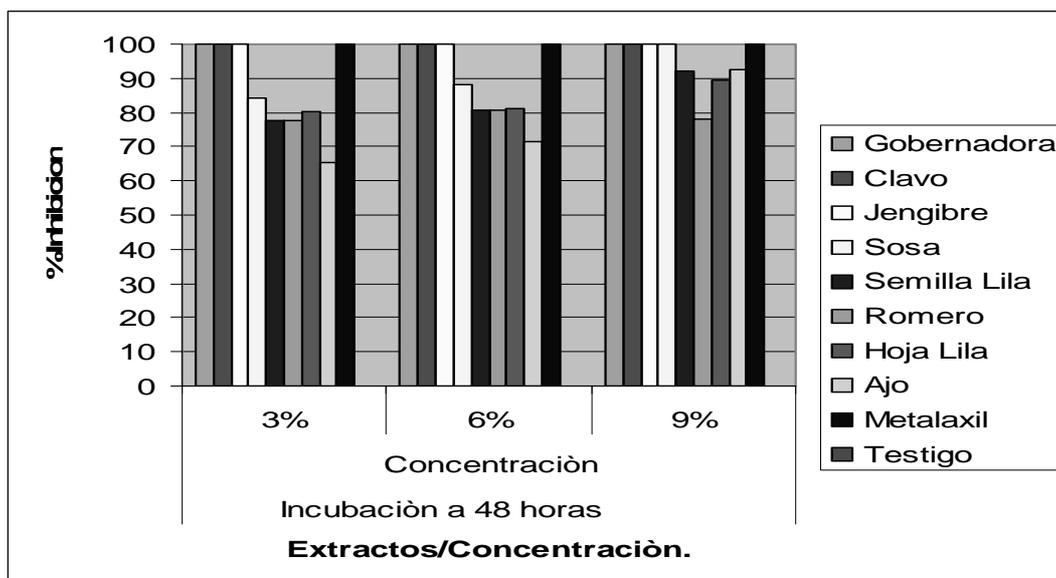


Figura 17. Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 48 h de incubación del hongo.

En esta grafica se aprecia que los extractos de gobernadora, clavo y jengibre inhibieron por completo, al igual que el Metalaxil-M, el crecimiento del micelio del hongo en las tres concentraciones de extractos. Sin embargo, al incrementar el periodo de incubación a 96 h (Fig. 18) y 144 h (Fig. 19), se observó que el extracto de gobernadora a la concentración de 3 %, disminuyó su efecto inhibitorio a 95.7 y 93.3 % respectivamente, lo cual indica que aunque su efecto sigue siendo estadísticamente igual al Metalaxil-M, señala la tendencia a disminuir su efecto inhibitorio a medida que se incrementa el tiempo de exposición a los compuestos causantes de tal efecto.

Se aprecia también en esta grafica que los extractos de clavo y jengibre mostraron el mismo efecto inhibitorio tanto en este como en los otros dos periodos de incubación (Fig. 18 y Fig. 19).

Los extractos de sosa, *M. azedarach*, romero y ajo, mostraron un incremento en su efecto inhibitorio al aumentarse la concentración de los extractos de 3 a 6 y 9 % dentro de este mismo periodo de incubación.

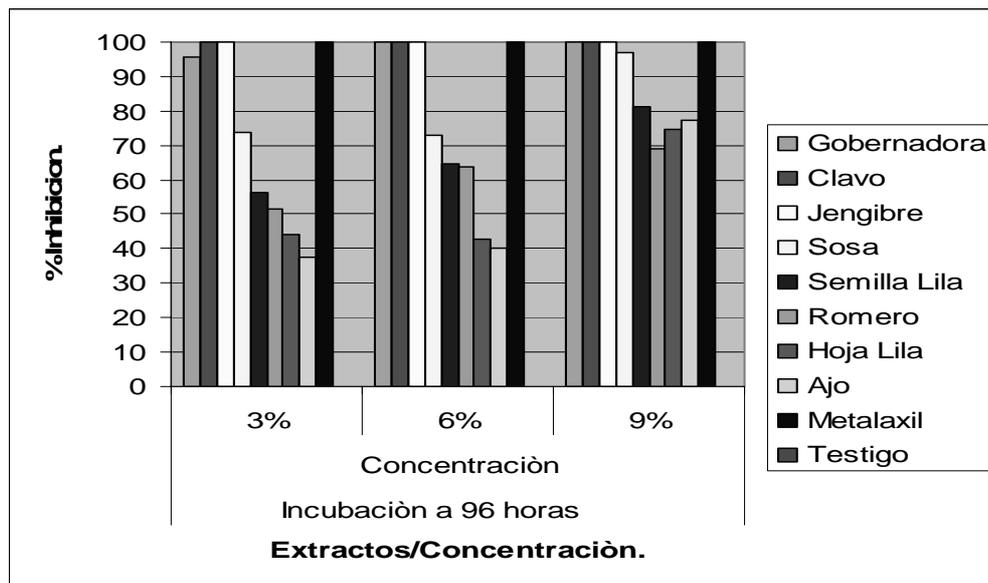


Figura 18. Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones, sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 96 h de incubación del hongo.

En el periodo de incubación de 96 h (Fig. 18), excepto el extracto de gobernadora que disminuyó su efecto inhibitorio a 95.7 % a la concentración de 3 %, los extractos de clavo, jengibre mostraron una consistente inhibición de 100 % a las concentraciones de 3, 6, y 9 %, observándose la misma situación para el periodo de incubación de 144 h para estos mismos extractos (Fig. 19). Los extractos de sosa, *M. azedarach* (hoja y semilla lila), romero y ajo, en general, mostraron un efecto inhibitorio menor que en el periodo de incubación de 48 h; sin embargo, se observó un incremento en su efecto inhibitorio al aumentarse la concentración de 3 a 6 y 9 %.

En el periodo de incubación de 144 h (Fig. 19), de nuevo se observó que el extracto de gobernadora disminuyó su inhibición, pero ahora a 93.3 %. Sin embargo, se mantuvo estadísticamente igual ($p < 0.01$) al Metalaxil-M. Los extractos de clavo y jengibre se mantuvieron con un 100 % de inhibición.

Los extractos de sosa, *M. azedarach*, romero y ajo, mostraron también en general, un efecto inhibitorio menor que en el periodo de incubación de 96 h; sin

embargo, se observó también un incremento en su efecto inhibitorio al aumentarse la concentración los extractos de 6 a 9 %.

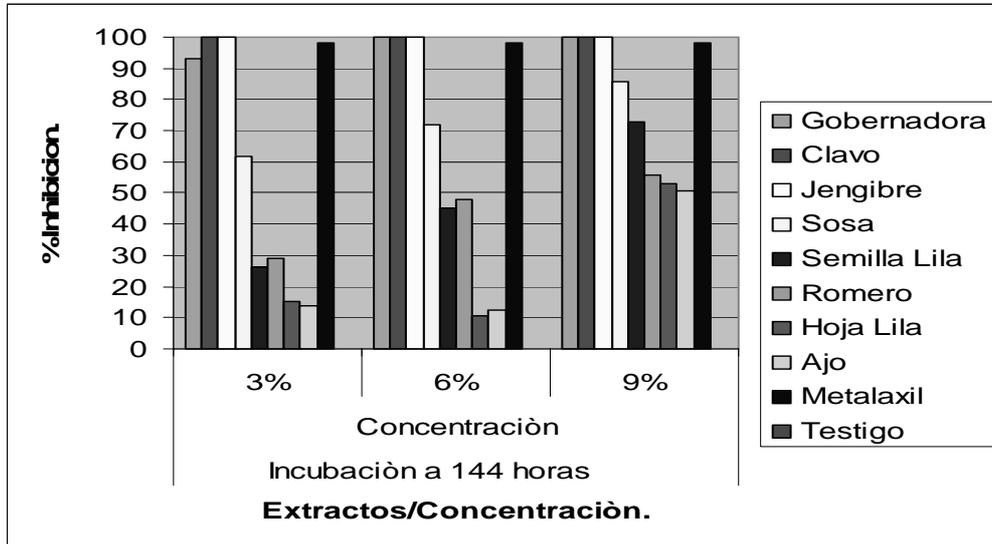


Figura 19. Efecto inhibitorio de ocho extractos vegetales a tres concentraciones, sobre el crecimiento radial del micelio de *P. capsici* después de 144 h de incubación del hongo.

Etapa II Invernadero (*In Vivo*)

En esta etapa del trabajo, solo se utilizaron los extractos de ajo, clavo, gobernadora y sosa, además de los testigos Metalaxil-M y Agua Destilada. Para propósitos del mejor manejo de datos, la escala de evaluación de *P. Capsicum* de acuerdo a Glosier *et al.* (2007) se transformó multiplicando por 20 cada valor de la misma escala que describe determinados síntomas, considerando estos como incidencia de la enfermedad en por ciento.

El experimento *In Vivo* solo se prolongó por una semana, alcanzándose a hacer solo cuatro evaluaciones, de los efectos de los extractos y testigos sobre la incidencia y el desarrollo de la enfermedad en porciento. Estas evaluaciones se hicieron cada dos días, ya que en condiciones favorables para el hongo, ésta enfermedad es sumamente agresiva. El análisis de varianza al término del experimento (Cuadro 7), no mostró diferencias estadísticas, lo cual era de esperarse, ya que al término del experimento, en ninguno de los tratamientos se observaron plántulas sanas, sino por el contrario, todas las plántulas mostraron altos niveles de enfermedad incluyendo al fungicida Metalaxil-M. Sin embargo, diferencias observadas en cuanto al avance de la enfermedad entre tratamientos a través del desarrollo del experimento, indican que la enfermedad progresó más lentamente en algunos extractos que en otros (Cuadro 8).

Cuadro 7. Análisis de Varianza para efectos de los extractos sobre incidencia de enfermedad en plántulas de chile previamente inoculadas con *Phytophthora capsici*.

F de V	DF	S.C.	C.M
Repeticiones	3	23.56	7.6
Tratamientos	5	17.35	3.47 ns
concentraciones	2	9.35	4.6 ns
Error	30	56.525	
Total	40	9188.123	

Al observarse de que no existen diferencias entre tratamientos y Concentración se procedió a realizarse una prueba de Media por el Método de Tukey y este fue el resultado obtenido.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	68.63937
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	9.9929

Cuadro 8. Prueba de rango por el Método de Tukey.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Trata
A	59.588	12	Metalaxil
A			
A	59.030	12	Testigo
A			
B A	52.446	12	Clavo
B			
B C	44.682	12	Gobernadora
B C			
B C	43.649	12	Sosa
C			
C	37.760	12	Ajo

Esta prueba de medias corroboró que no existen diferencias estadísticas entre extractos ni concentraciones.

Al observarse estos resultados que no fueron significativos se procedió a realizarse con los datos obtenidos en campo (Invernadero), a realizarse el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de acuerdo a Haynes, K. G. y Weingartner. D. P. (2004), para poder llegar a resultados que se obtuvieron y que nos proporcionara tener comparaciones entre Tratamientos, concentraciones y Tiempo de muestreo, con estos podemos llegar a resultados y poder comparar y llegar a una conclusión en la que se explique cuál fue el Mejor Tratamiento, en que concentración y en qué Tiempo.

Cuadro 9. Efecto de tres concentraciones de extractos (0.5 %, 1.0 % y 2.0 %) en el desarrollo promedio de la enfermedad en cuatro plántulas, causada por *P. capsici* en plántulas de chile susceptible a través de cuatro evaluaciones tomadas cada dos días.

Extracto/concentración		1 ^a Evaluación	2 ^a Evaluación	3 ^a Evaluación	4 ^a Evaluación
Ajo	0.5	5	20	65	90
	1.0	10	35	70	75
	2.0	0.0	15	40	80
Clavo	0.5	20	40	85	80
	1.0	30	50	85	95
	2.0	20	40	70	85
Gobernadora	0.5	15	35	65	80
	1.0	20	35	70	85
	2.0	15	35	70	80
Sosa	0.5	20	40	75	85
	1.0	10	25	60	70
	2.0	15	35	70	80
Metalaxi-M	0.08 g/l	30	30	100	100
Agua Destilada	50 ml	40	40	100	100

En los resultados presentados en el Cuadro 9, se observa que el efecto inhibitorio de los extractos sobre el crecimiento del micelio del hongo *In Vitro*, no solo no tuvo ningún efecto protector contra la enfermedad *In Vivo*, puesto que al término del experimento se obtuvieron porcentajes muy altos de la enfermedad en todos los tratamientos. Se aprecia claramente en todos los tratamientos como la enfermedad incrementa a través de los días independientemente del extracto y de su concentración. Tampoco el testigo Metalaxil presentó algún efecto contra el desarrollo

de la enfermedad. Incluso, al igual que el testigo Agua Destilada, fue el único que alcanzó 100 % de enfermedad.

Con los datos obtenidos sobre la severidad de la enfermedad, se determinó el Área Bajo la Curva de Desarrollo de la Enfermedad (ABCDE) para conocer el avance de la enfermedad y su respuesta a los diferentes extractos durante este corto periodo de tiempo del experimento, para lo cual se utilizó el siguiente modelo propuesto por Shaner y Finney (1977). Este parámetro nos muestra en un solo valor la dinámica o comportamiento de una enfermedad a través de un cierto periodo de tiempo y es frecuentemente utilizado cuando se trata de determinar el efecto de algunos tratamientos sobre el desarrollo de una enfermedad ó el nivel de resistencia cuantitativa a alguna enfermedad en alguna variedad en el campo, nos muestra. Las unidades de ABCPE son para este caso Porcentaje-Horas (si la severidad es expresada en Porcentaje y el Tiempo en Horas). Mientras más alto sea el ABCPE la epidemia será más Severa.

El Área bajo la Curva de Desarrollo de la Enfermedad ABCPE se calculó con la ecuación siguiente.

$$ABCPE = \sum_i^{n-1} \left(\frac{X_i + X_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Donde X_i es Severidad de *P. capsici* (porcentaje o proporción) a la i -ésima evaluación, t_i es el tiempo (horas, generalmente después de haber hecho la siembra o inoculación, de la i -ésima evaluación, y n es el numero de evaluaciones.

A continuación se presenta el siguiente ejemplo del Ajo al 0.5%.

$t_1 = 48$ hrs.	$X_1 = 5\%$
$t_2 = 96$ hrs.	$X_2 = 20\%$
$t_3 = 144$ hrs.	$X_3 = 65\%$
$t_4 = 192$ hrs.	$X_4 = 90\%$

Sustituyendo la formula antes mencionada queda de la siguiente manera:

$$ABCPE = \sum_i^{4-1} \left(\frac{5+20}{2} \right) (96 - 48) = 600$$

$$ABCPE = \sum_i^{4-1} \left(\frac{20+65}{2} \right) (144 - 96) = 2040$$

$$ABCPE = \sum_i^{4-1} \left(\frac{65+90}{2} \right) (192 - 144) = 3720$$

Las unidades de ABCPE son porcentajes-horas (si la severidad es expresada en porcentaje y el tiempo para este caso es en horas). Mientras más alto sea el ABCPE la epidemia será más Severa. Al sumarse todas las evaluaciones para en este caso del Ajo al 0.5% un total de ABCPE= **6360%-horas**. De esta manera se realizaron con todas las demás evaluaciones para cada tratamiento. (Figura 20)

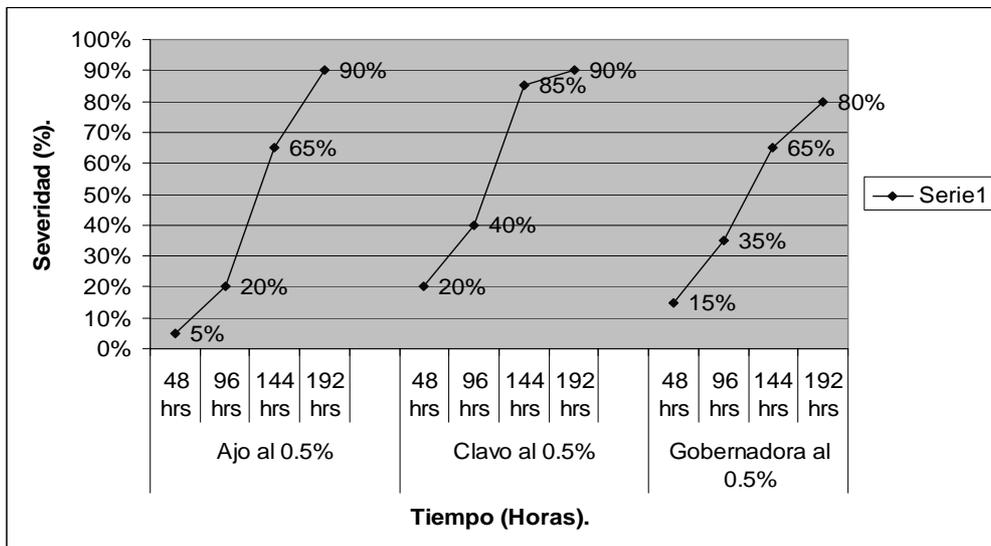


Figura 20. Área bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 0.5% de concentración.

Valores de ABCPE para ajo al 0.5%= **6360 %-hrs.**
 Valores de ABCPE para clavo al 0.5% = **8640 %-hrs.**
 Valores de ABCPE para gobernadora al 0.5% = **7080 %-hrs.**

La figura 20 muestra la curva de crecimiento de la enfermedad como respuesta a los tratamientos con los extractos de ajo, clavo y gobernadora a la concentración de 0.5 %. Aún cuando los tratamientos de ajo y clavo terminaron con el mismo nivel de enfermedad, se puede apreciar que el desarrollo fue más lento. En el extracto de gobernadora, no solo fue más lento, sino que terminó con un menor nivel de enfermedad. Los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M (Fig. 21), terminaron el experimento con un 100 % de enfermedad, sin embargo el desarrollo de la enfermedad fue más lento en el tratamiento de Metalaxil-M, lo cual no determina ninguna ventaja.

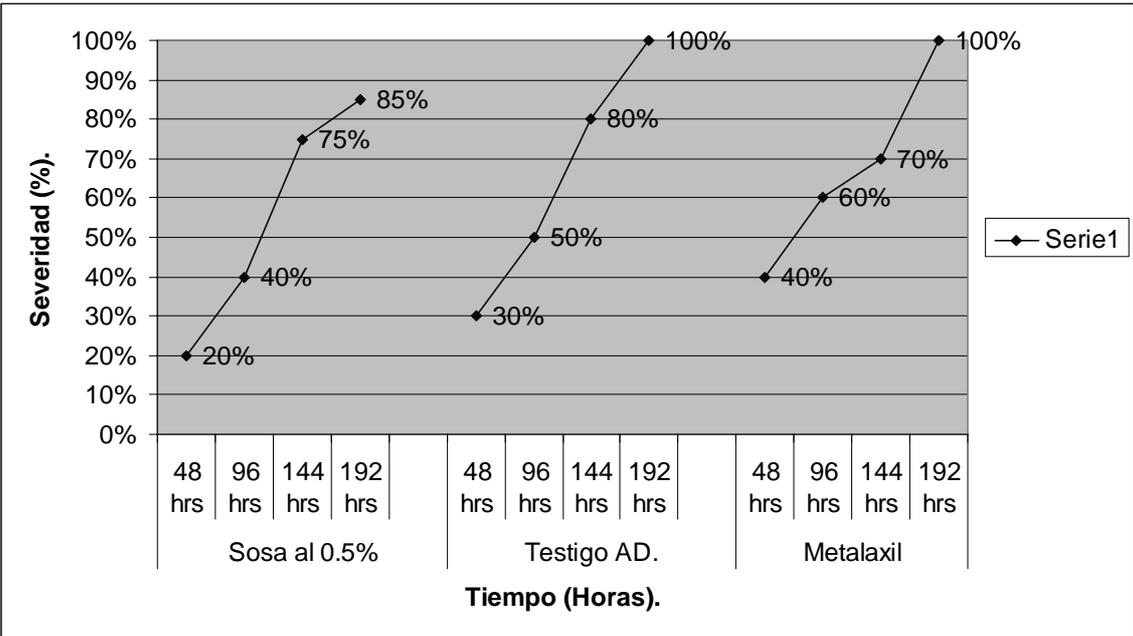


Figura 21. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de sosa al 0.5% de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M

Valores de ABCPE para sosa al 0.5%= **8040 %-hrs.**

Valores de ABCPE para el testigo Agua Destilada = **9360 %-hrs.**

Valores de ABCPE para el testigo Metalaxil-M = **9600 %-hrs.**

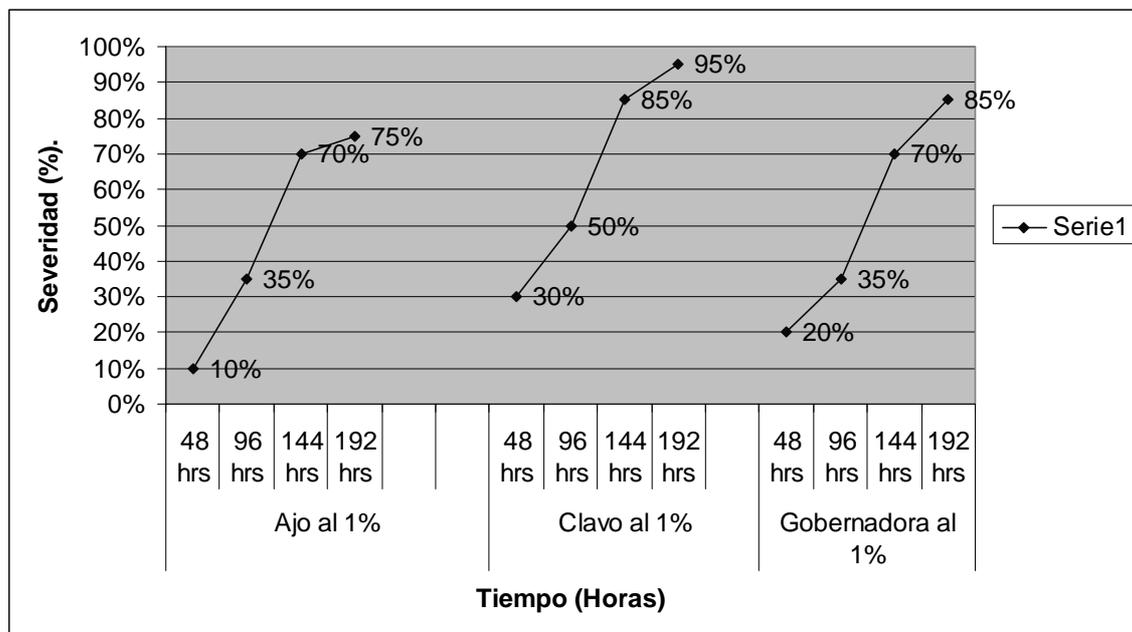


Figura 22. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 1.0 % de concentración.

Valores de ABCPE para ajo al 1%= **7080%-hrs.**

Valores de ABCPE para clavo al 1% = **9480%-hrs.**

Valores de ABCPE para gobernadora al 1% = **7560%-hrs.**

Al incrementar la concentración de los extractos al 1 % (Fig. 22), la curva de desarrollo de la enfermedad del extracto de ajo indica un progreso más lento, así como un menor porcentaje final de la enfermedad. Sin embargo, no puede considerarse como benéfico ya que el porcentaje de enfermedad sigue siendo muy alto. Los extractos de clavo y gobernadora, no presentaron ningún efecto contra el desarrollo de la enfermedad. El extracto de sosa al 1.0% (Fig. 23) presentó un desarrollo más lento de la enfermedad y terminó con menor porcentaje.

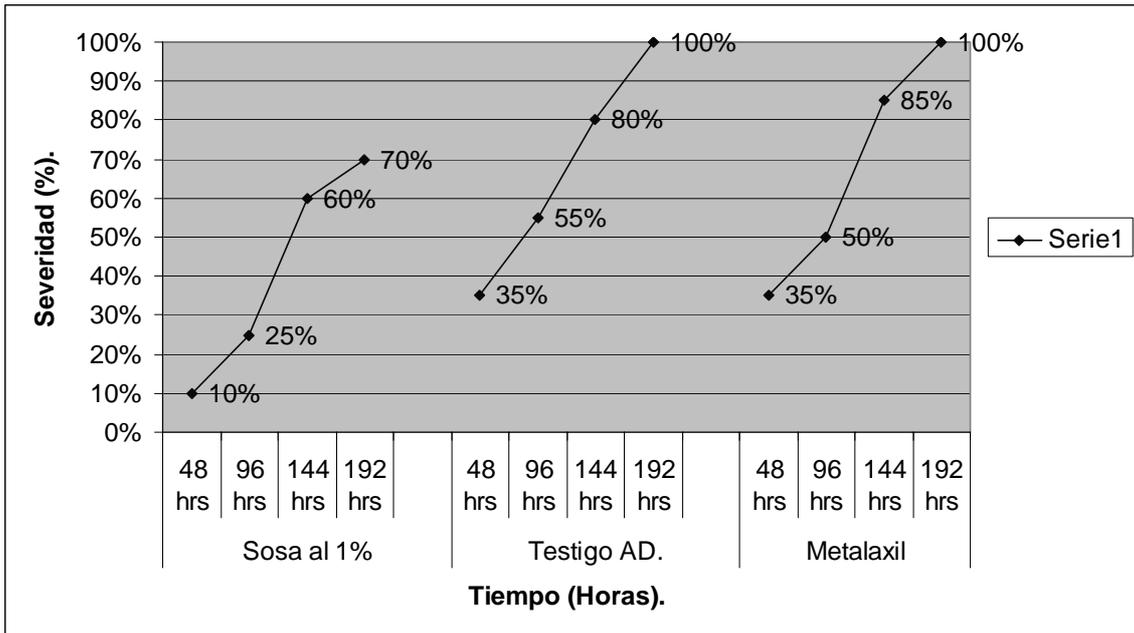


Figura 23. Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de Sosa al 1.0% de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M.

Valores de ABCPE para sosa al 1%= **6000%-hrs.**

Valores de ABCPE para testigo Agua Destilada = **9720%-hrs.**

Valores de ABCPE para testigo Metalaxil= **9720%-hrs.**

Para esta Figura No. 23 representa que la sosa al 1.0% muestra su resistencia o tolerancia hacia la enfermedad es muy poca ya que obtiene un ABCPE de 6000%-horas, al ser comparado con el fungicida Metalaxil y el Testigo Agua Destilada que arrojan el mismo resultado obteniendo un ABCPE de 9720%-horas, incrementando en un 37.2% su severidad, como este es un valor del ABCPE muy alto la enfermedad es muy severa.

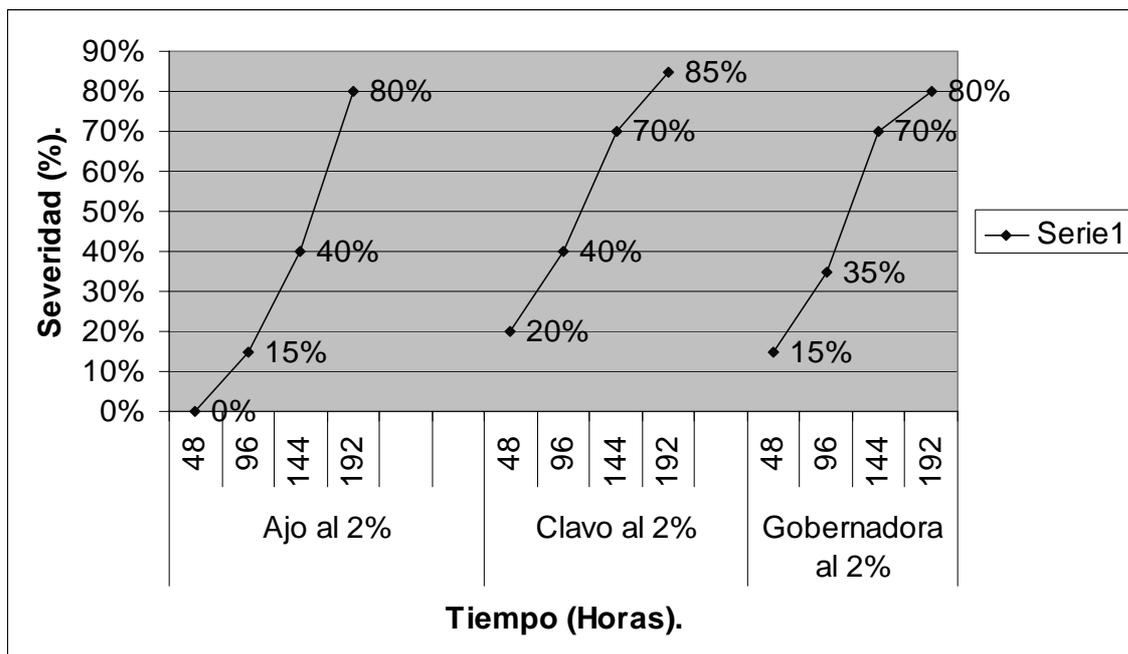


Figura 24. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de ajo, clavo y gobernadora al 2.0 % de concentración.

Valores de ABCPE para el ajo al 2% = **4560%-hrs.**

Valores de ABCPE para el clavo al 2%= **7800%-hrs.**

Valores de ABCPE para gobernadora al 2%= **7320%-hrs.**

En esta Figura No. 24 representado por las Concentración al 2.0%, seguido del mismo procedimiento del ABCPE, muestra que el ajo sigue siendo resistente a la severidad de la enfermedad obteniendo un ABCPE de 4560%-horas, seguido de gobernadora con un ABCPE de 7320%-horas, aunque incrementa casi en un 5% la severidad, al ser comparado al del clavo que aun es susceptible al daño de la enfermedad obteniendo un 7800%-horas incrementando en un 30% su severidad al ser comparado con el ajo y gobernadora.

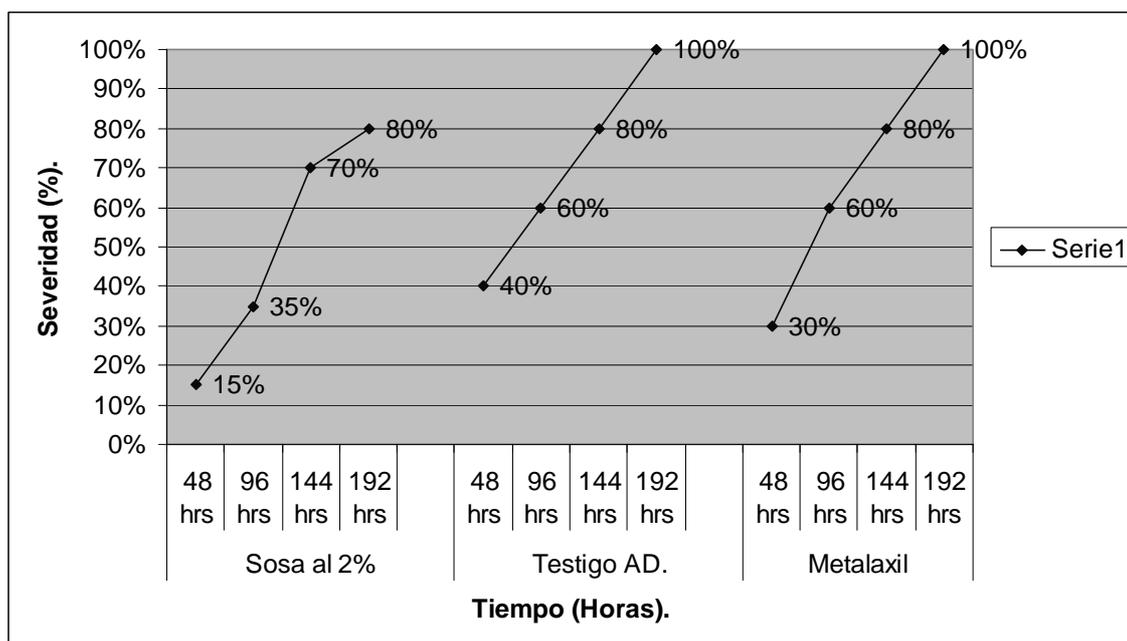


Figura 25 Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) generada por los extractos de sosa al 2.0 % de concentración y los testigos Agua Destilada y Metalaxil-M.

Valores de ABCPE para sosa al 2% = **7320%-hrs.**

Valores de ABCPE para el Testigo Agua Destilada= **10080%-hrs.**

Valores de ABCPE para Metalaxil = **9840%-hrs.**

Al incrementar la concentración de los extractos al 2 % (Fig. 24 y 25) solo los extractos de ajo y de sosa continuaron presentando un desarrollo más lento de la enfermedad terminando el experimento con los menores porcentajes de enfermedad. Sin embargo, esto de ninguna manera es suficiente para pensar en la posibilidad de una alternativa orgánica de control de la marchites del chile causada por *Phytophthora capsici*.

A continuación se presenta la figura 26 correspondiente a la última evaluación y se hacen las comparaciones entre tratamiento: ajo al 2%, donde se aprecia que las repeticiones muestra que este tratamiento aun esta soportando la severidad del hongo *P. capsici*, al ser comparado con el tratamiento testigo agua destilada se observa que las repeticiones están muy dañadas por este mismo hongo, y de igual

forma para el tratamiento fungicida Metalaxil que también se observa que no soporto la severidad de la enfermedad causada por *P. capsici*. (In Vivo).



Figura 26. Comparación entre los Tratamientos de: ajo 2%, testigo y fungicida Metalaxil.

La figura 27 representa las comparaciones entre los tratamientos: testigo agua destilada tomadas en la tercera etapa de evaluación y se aprecia que ya se empiezan observar que las repeticiones empiezan a morirse por la severidad de la enfermedad, de igual forma para el tratamiento fungicida Metalaxil, se observan que las repeticiones empiezan a declinarse por la gravedad de la enfermedad, y de situación parecida para el tratamiento sosa, aunque en esta repetición se aprecia que sienten mas la severidad de la enfermedad al ser comparado con los demás tratamiento. (In Vivo)



Figura 27. Comparaciones entre el testigo, Metalaxil y Sosa al 2%.

Conforme a los resultados obtenidos, a continuación se hacen la siguiente discusión tanto In Vitro como In Vivo.

Todos los extractos mostraron en mayor ó menor intensidad, un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora capsici* en el medio de cultivo *In Vitro*, lo cual mostró diferencias altamente significativas entre extractos. Las interacciones altamente significativas ($p < 0.01$) observadas entre extractos, concentraciones y periodos de incubación, de acuerdo al Cuadro 6, se explican por el hecho de que al incrementar la concentración de los extractos dentro de un mismo periodo de incubación, se incrementó el efecto inhibitorio. Esto debido a que se incrementan las cantidades de sustancias inhibitorias en el medio de cultivo contenidas en los extractos tales como compuestos de azufre. (López *et al.* 2005). Sin embargo, también el mismo autor señala que al incrementar el periodo de incubación con la misma concentración, algunos extractos disminuyeron su efecto inhibitorio debido a que las sustancias responsables de la inhibición de los extractos sobre el crecimiento del micelio en el medio de cultivo comienzan a descomponerse.

Los extractos de *Larrea tridentata*, *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale*, mostraron un efecto inhibitorio estadísticamente ($p < 0.01$) igual al Metalaxil-M en las tres concentraciones de extractos y durante los tres periodos de incubación. El efecto inhibitorio de los extractos de *L. tridentata* ha sido demostrado en mayor o menor grado sobre un amplio espectro de fitopatógenos, entre las que se encuentran *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dhaliae* y *R. solani* con un rango de inhibición variable. (De La cruz, R., 2003). Sin embargo, en el presente trabajo su efecto sobre *P. capsici* fue estadísticamente igual ($p < 0.01$) al fungicida Metalaxil-M.

El extractos de *Syzygium aromaticum*, mostró el mayor efecto inhibitorio sobre *P. capsici* en las tres concentraciones y durante los tres periodos de incubación. Esta alta efectividad de los extractos de clavo ha sido observada también en una diversidad de especies de hongos como *Botrytis cinérea* (Antonov *et al.*, 1997, Wilson *et al.*, 1997; en *Aspergillus flavus* de acuerdo a Montes-Belmont., 1997; *Aspergillus niger* Tiegh y *Eurotium repens* de Bary, Chalfoun *et al.* 2004); *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan en cultivos *In Vitro* y en plantas de Teresita *Vica minor*, (Browsers-Locke 2004) y *Fusarium moniliforme* Sheld, (Bravo-Luna *et al.* 1998)

El extracto de *Zingiber officinale*, también mostró una inhibición de 100 % en todos los tratamientos, Los extractos de los rizomas de esta planta han mostrado una alta actividad antimicrobial contra *Salmonella* y moderada actividad contra *Listeria*, así como una importante actividad contra *R. solani*. (Manjree-Agarwal *et al.* 2001). El resto de los extractos mostraron un importante efecto inhibitorio sobre el desarrollo del micelio de *P. capsici*, el cual fue significativamente inferior a los tratamientos anteriores, pero fue influenciado por las concentraciones y los periodos de incubación.

Solo *Solanum torvum* resultó estadísticamente igual ($p < 0.01$) al Metalaxil-M a la concentración de 9 % en los tres periodos de incubación. Los extractos metanolicos de *Solanum torvum* han mostrado un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra aislamientos bacteriales de humanos y animales y aislamientos de hongos fitopatógenos. En términos generales, los extractos de *Solanum torvum*, *Melia azedarach* (hoja y semilla lila), *Rosmarinus officinalis* y *Allium sativum* mostraron la tendencia a incrementar su efecto inhibitorio al incrementar la concentración de los extractos dentro del mismo periodo de incubación, así como a disminuirlo al incrementar el periodo de incubación con la misma concentración del extracto.

Aunque los extractos de *Melia azedarach*, tanto de semilla como de hoja, en general resultaron significativamente iguales ($p < 0.01$) tuvieron una actividad inhibitoria parcial, igual a la que ha sido descrita para *Sclerotium rolfsii* *Thielaviopsis basicola* y *Alternaria solani* en medio papa-dextrosa. (Almanza-Pecina 2004; y Marcos-Cruz, 1996), utilizando extractos acuosos de lila obtuvo niveles de control parcial de la pudrición de la raíz y la corona causada *Fusarium oxysporum radicum-Lycopersici* en tomate cultivado en invernadero. Los extractos de *Rosmarinus officinalis* han sido descritos con una eficiente actividad bactericida (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Para el extracto de *Allium sativum* se observó una actividad antifúngica variable que alcanzó máximo de 93 % a la concentración de 9 % y 48 h de incubación. Es sabido que los extractos de *Allium sativum* tienen un amplio rango de actividad antimicrobial contra una gran diversidad de especies de hongos. (Su Li y Cheng Zhihui 2009).

Los extractos de sosa inhibieron en forma importante el desarrollo del micelio de *P. capsici*, se han reportado que el extracto acuoso de *S. torvum* es citotóxico para las células HTC-15 derivadas de colon humano. Además han demostrado que el extracto acuoso tiene actividad bactericida. (Velasco *et al.* 2005).

En el experimento *In Vivo* en invernadero, los cálculos del Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE), para la concentración al 0.5% nos muestra como resultado que el Tratamiento ajo obtuvo un total de ABCPE de 6360 %-horas seguido de gobernadora en la misma Concentración con un total de ABCPE de 7080%-horas, los Tratamientos de sosa obtuvo un ABCPE de 8040%-horas, el Tratamiento del clavo obtuvo un ABCPE de 8640%-horas, comparándose con el Testigo Agua Destilada que obtuvo un total de ABCPE de 9360%-horas y el fungicida Metalaxil con un ABCPE de 9600%-horas, con estos resultados nos arrojan que los extractos vegetales resultaron tener mas resistencia o tolerancia a la severidad de la enfermedad al ser comparados con el testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil.

A la concentración del 1.0%, siguiendo con el mismo procedimiento del ABCPE, se obtuvieron los siguientes resultados; se pudo observar que el Tratamiento sosa obtuvo un ABCPE de 6000%-horas, fue la que no presento incremento en la severidad de la enfermedad, seguido del ajo que tuvo un ABCPE de 7080%-horas, en tercer lugar la gobernadora que obtuvo un ABCPE de 7560%-horas, y el ultimo extracto que fue el clavo que conforme pasa el tiempo (horas) se observa que incrementa su severidad ya que obtuvo un ABCPE de 9480%-horas, al ser comparados con el testigo Agua Destilada y el fungicida Metalaxil que obtuvieron la misma ABCPE de 9720%-horas, con estos resultados se vuelve a coincidir que los extractos vegetales aun son mas resistentes a la severidad de la enfermedad de *P. capsici*.

Con lo que respecta a la concentración del 2.0%, seguido del mismo procedimiento del ABCPE se encontraron los siguientes resultados; el ajo arrojó un ABCPE de 4560%-horas demostrando ser el menor que obtuvo resistencia de severidad a la enfermedad, los Tratamiento de gobernadora y sosa obtuvieron la misma ABCPE de 7320%-horas, y que el clavo sigue incrementando su ABCPE de 7800%-horas como se pudo observar en todas sus evaluaciones respectivas, el fungicida Metalaxil obtuvo un ABCPE de 9840%-horas demostrando ser susceptible a la severidad de la enfermedad, pero el testigo obtuvo un ABCPE de 10080%-horas el cual incremento su severidad al máximo porcentaje-horas en esta última evaluación.

Con estos resultados obtenidos, se pudo observar que los extractos vegetales en las Concentraciones del 0.5%, 1.0% y 2% mostraron ser muy inferiores a la severidad de la enfermedad al ser comparados con el fungicida Metalaxil y el testigo Agua Destilada, con la ayuda del ABCPE se pudo identificar que los extractos mostraron un comportamiento de severidad muy inferior en los periodos de la enfermedad de *Phytophthora capsici* a comparación al del Fungicida Metalaxil y del testigo Agua Destilada, ya que entre más alto sea el ABCPE la enfermedad será mas severa como se pudo observar en esta investigación.

Con estos resultados obtenidos podemos decir que los extractos vegetales han demostrado que pueden ser aplicados en cultivos hortícolas para el control de enfermedades que afectan al sector agrícola (especialmente a *Capsicum annum*), y que nos proporcionan buenos resultados en condiciones de Invernadero como se pudo apreciar en este experimento.

V. CONCLUSIONES

Con base en los objetivos e hipótesis planteadas se establecen las siguientes conclusiones:

1. Los extractos empleados mostraron efectos inhibitorios sobre el crecimiento radial del micelio de *Phytophthora capsici* *In Vitro* estadísticamente diferente, resultando los extractos de clavo, gobernadora y jengibre con un efecto inhibitorio estadísticamente igual al fungicida Metalaxil-M.
2. Los extractos de sosa, romero y ajo mostraron un importante efecto inhibitorio *In Vitro*, aunque resultaron significativamente inferiores al Metalaxil-M.
3. El efecto preventivo ó curativo de los extractos sobre plántulas de chile inoculadas con el hongo en invernadero fue nulo, pues aunque en algunos extracto el progreso de la enfermedad fue más lento que en otros, al final alcanzaron altos niveles de enfermedad.

VI. LITERATURA CITADA

- Almanza-Pecina, F., 2004. Efecto inhibitorio de extractos vegetales acuosos sobre *Rhizoctonia solani* creciendo in Vitro y sobre la germinación de desarrollo de plantas de frijol. Tesis de maestría. Universidad autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo, Coahuila, México.
- Antòn, R., Beretz, A., and Haag-Burrurier, M. 1987. New properties for old compounds. *In*: Hostetmann, K. and Lea, P. J. Biologically active natural products. Oxford Uni. Press. 125 p.
- Antonov, A., Stewart, A., and Walter, M. 1997. Inhibition of conidium germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by natural products. Pp. 159-164. 50th Conference Proceedings of the New Zealand Plant Protection Society Incorporated. Palmerston, New Zealand. 546 p.
- Avelar, M.J. y Marbàn, M. 1989. Intentos de control de la marchites del chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo. Púe. Memorias XVI Congreso Nacional de Fitopatología, Montecillos Mex.
- Barnett, H. L., 1969. Illustrated Genera of imperfect Fungi. Department of plant Pathology, Bacteriology, and Entomology. West Virginia University. Morgantown, West Virginia. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA. 225 p.
- Barni, M., Fontanals, A., y Moreno, S. 2009. Estudio de la eficacia antibiótica de un extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. contra *Staphylococcus aureus* en dos modelos de infección en piel de ratón. Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants 8(3):219-223
- Bowers, J., and Locke, J. C., 2004. Effect of formulated plant extracts and oils on population density of *Phytophthora nicotiana* in soil and control of *Phytophthora blight* in the greenhouse. Plant Disease 88:11-16.

- Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K. Montes-Belmont, R. 1998. Inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium moniliforme* Sheld., mediante aceites esenciales vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 16:18-23.
- Campos, A. J. E., Vázquez, M. M. S. Y Rodríguez, G. R. 1994. Efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento de *Rhizobium solani* en laboratorio. *Memorias del XXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México. 47 p.
- Chalfoun, S. M., Pereira, M. C., Resende, V. M., Angélico. C. M., et Da Silva, R.A., 2004. *Ciencia e Agrotecnologia Lavras* 28:856-862.
- FAO. 1976. *La madera tendencia y perspectivas mundiales*. No. 16. Impreso en Italia Pág. 1-10.
- Gamboa-Alvarado, R., Hernández-Castillo, Guerrero-Rodríguez, E., Sánchez-Arizpe, A., y Liria-Saldivar, R.H. 2003. Inhibición del crecimiento Micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos Vegetales Metanolicos de Hojasèn (*Flourensia cernua* D.C.), Mejorana (*Origanum majorana* L.) y Trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Revista Mexicana de Fitopatología*: 21:13-18.
- García R. S., Juárez C., Carrillo J.A., Allende R. Márquez I. y Muy- Rangel M.D. 2000. Marchitez Bacteriana en Chile Bell Causada por *Erwinia carotovora* Subs. *Carotovora*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18(2): 120-124.
- García, R. L. y Montes-Belmont, R. 1992. Efecto de los extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en jitomate. *Memorias del XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Saltillo, Coahuila, México. 159 p.
- García, R. y García, A. 2004. Evaluación de Estrategias para el Control Químico del Tizón Tardío de la Papa en dos localidades del Estado de Mérida, Venezuela. *Bioagro* 16:77-83

- Glosier B. R., E. A. Ogundiwin, G. S. Sidhu, D. R. Sischo, J. P. Prince. 2007. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora*. *Euphytica*
- Grainge, M., and Ahmed, S. 1998. Handbook of plants with pest Control Properties. John Wiley and Sons. New York, USA. 470 p.
- Guigón C. y González P.A. 2001. Estudio Regional de la Enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su Comportamiento Temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19 (1): 49 – 56.
- Haynes, K. G. and Weingartner. D. P. 2004. Use of Area Under the Disease Progress Curve to Assess Resistance to Late Blight in Potato Germplasm. *American Journal of Potato Research*. 81: 137-141
- Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E., Zitter T. A. 1997. Compendium of Tomato Diseases. APS. PRESS. The American Phytopathological Society. p. 13-14. USA.
- Jeger M. J., Viljanen-Rollinsons, S. L. H. 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 2001. 102: 32-40
- López-Benítez, Sandra Roxana López-Betancourt, Mario Ernesto Vázquez-Badillo; Mariano Mendoza-Elos y Emilio Padrón-Corral, E. 2005. Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. F. sp. *Lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuáticos.
- Manjree-Agarwal, Suresh Walia, Swaran Dhingra, Bhupinder Khambay. 2001. Insect growth inhibition antifeedant and antifungal activity of compounds isolated derived from *Zingiber officinale* Roscoe (ginger rhizomes). *Pest Management Science*. 57: 289-300.
- Manuel-de La Cruz, R., 2003. Efecto Inhibitorio de 16 extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, *Verticillium dahliae*, y *Rhizoctonia solani* en medio de cultivo PDA. Tesis de licenciatura. Universidad autónoma agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Marcos-cruz, F. 1996. Evaluación de Extractos vegetales para el control de la corona y Raíz del Tomate *Lycopersicum esculentum* Mill. Causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radiciis Lycopersici* Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Montes-Belmont, R. y Sandoval-García, G. 1990. Extractos Vegetales Inhibidores de la germinación de Urediosporas de *Uromyces phaeolis* var. Típica Arth., y su espectro de acción. Revista Mexicana de Fitopatología. Revista Mexicana de Fitopatología 23:183-190.
- Montes-Belmont, R. y Peralta, S.A. 1993. Tizón del crisantemo en Oaxaca y sus posibilidades de control con extractos vegetales. Revista Mexicana de Fitopatología 11:148-153.
- Montes-Belmont, R. 1996. Productos Naturales de Origen vegetal Para el Combate de Fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología. 14:9-14.
- Montes-Belmont, R., 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas Para el combate de *Aspergillus flavus* Link. En maíz. Revista Mexicana de Fitopatología 15:26-30.
- Pérez, M.L., Medina, L.O. y Salinas, G.J.G. 1990. Control genético y químico de la marchites del chile *Capsicum annum* L. causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo. en la región de Irapuato, Gto., México. Revista Mexicana de Fitopatología 8:71-76.
- Redondo, E. 1974. Estudio Preliminar en la Obtención de Posibles Plantas Diferenciales Para Agrupar Las Razas Patogénicas del Hongo *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Ristaino, J. B. 1990. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from Pepper and cucurbit fields in North Carolina. Phytopathology 80:1253-1259.
- Serrano, G. E. 1983. Economía de la actividad forestal. Serie de ciencias sociales. No. 5 Ed. Colección de cuadernos universitarios. Impreso en Chapingo Méx. P 36-48.

- Su Li and Cheng Zhihui. 2009. *Allium sativum* Extract as a Biopesticide Affecting Pepper Blight. *International Journal of Vegetable Science*. 15 (1):13 – 23.
- Shaner G, Finney R (1977) the effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox. *Phytopathology* 67:1051-1056.
- Velasco, L. R., Almanza, P. J. C., Tapia, A. R., Román, R. R. Vázquez, C. L. & Alarcon, A. F. (2005). Detection of cytotoxic activity of *Psacalium palladium* on Normal mouse spleen cells and transformed human cells. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. 148: 150-153.
- Vargas-Arispuro, I., Araujo-Bernal, S. Y Martinez-Tellez, M.A., 1998. Efecto de Extractos de Plantas Sobre el Crecimiento y Producción de Aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:2 91-95.
- Wilson, C. L., Solar J. M., Ghaouth, E. A., and Wisniewski, M. E. 1997. Rapid evaluation of plants extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81: 204 – 210.
- Wilson, C. L. and Wisniewski, M. E. 1992. Future Alternatives to Synthetic Fungicidas for Control of Postharvest diseases. *In: E.S. Tjamos et al.*, (ed). *Biological Control of Plant diseases* 138 p.
- Zavaleta, M. E. 1987. Los modificadores orgánicos y su efecto sobre los nematodos fitoparásitos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 5:105-111.
- Zavala-Mejia, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra* 17:201-207.

CITAS DE INTERNET

- (Elkin Bustamante, 1993, “Marchitez fungosa del chile o pimiento”)
(<http://members.tripod.com/~sociedad/resumen22.html>)
- (K.H. Lamour, Graduate and M.K. Hausbeck, 1992, “*Phytophthora* Root Crown and Fruit Rot of Vine Crops”)
(<http://web1.msue.msu.edu/vegetable/Resources/phytophthora.htm>)
- (FAOSTAT, 2006, “Estadísticas de Producción Nacional del Chile”)
(http://www.inforural.com.mx/producto.php?&id_rubrique=17&id_article=7381)

(http://www.conaproch.org/ch_estadisticas_produccion.htm#mundial)
(Wikipedia, 2009, "Melia azedarach")
(http://es.wikipedia.org/wiki/Melia_bot%C3%A1nica)
(http://es.wikipedia.org/wiki/Melia_azedarach)
(Wikipedia, 2009, "Rosmarinus officinalis")
(<http://es.wikipedia.org/wiki/Romero>)
(Wikipedia, 2009, "Solanum torvum")
(http://es.wikipedia.org/wiki/Solanum_torvum)
(Wikipedia, 2009, "Zingiber officinale")
([http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros35es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros - 35k](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros35es.wikipedia.org/wiki/Cañacoros-35k))
(Wikipedia, 2009, "Allium sativum")
(<http://es.wikipedia.org/wiki/Ajo>)
(Wikipedia, 2009, "*Syzygium aromaticum*")
(<http://es.wikipedia.org/wiki/Clavo>)
(Wikipedia, 2009, "Larrea tridentata")
(<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/zygophyllaceae/larrea-tridentata/fichas/ficha.htm>)
(Wikipedia, 2009, "Capsicum annuum")
(http://es.wikipedia.org/wiki/Capsicum_annuum)
(Wikipedia, 2009, "Metalaxil")
(<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=339>)
(<http://www.ine.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/pdf/metalaxil.pdf>)